

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID**  
FACULTAD DE MEDICINA  
Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública y Microbiología



**TESIS DOCTORAL**

**Características epidemiológicas y clínico-microbiológicas de las  
enterobacterias productoras de carbapenemasa  
en un hospital de tercer nivel**

Memoria para optar al grado de Doctor presentada por  
Laura López González

**DIRECTORES**

Dr. Francisco Javier Candel González  
Dra. Iciar Rodríguez-Avial Infante

**TUTORA**

Dra. Maria Jesús García García

Madrid, 2019

A mis padres, mi hermana y Carlos

Quisiera expresar mi más sincero y profundo agradecimiento:

Al Dr. Francisco Javier Candel González, por haber confiado en mí desde el primer momento, por su paciencia, por la motivación que siempre me transmitió por la patología infecciosa, la infección nosocomial y el mundo de las resistencias bacterianas, por su bagaje profesional y por ser un referente en mi materia de estudio. Esta tesis no habría sido posible sin la pasión con la que siempre actúa y que me ha servido de estímulo para llevarla a cabo.

A la Dra. Iciar Rodríguez-Avial Infante, por haber encontrado en ella a una persona cercana y de gran apoyo, por haber tenido el privilegio de haberme enseñado e introducido en el campo de la biología molecular y por compartir sus muchos conocimientos también en el ámbito de las resistencias bacterianas. Su constante colaboración y perseverancia también han sido imprescindibles para culminar este trabajo.

A la Dra. Avelina Suárez Moya, jefa del Servicio de Microbiología Clínica del Hospital Clínico San Carlos de Madrid, por su inestimable confianza y apoyo durante mi proceso de formación como residente y ahora como facultativa. Para mí ha sido un inmenso orgullo que siempre haya contado conmigo, además de un ejemplo por su gran capacidad profesional y su dedicación.

Al Dr. Vicente Estrada Pérez, jefe de Sección de Enfermedades Infecciosas del mismo hospital, por haberme brindado la oportunidad de trabajar en su equipo, ampliar mis conocimientos y desarrollar mi faceta como investigadora. Su tesón y su valía profesional han representado igualmente un modelo en el que mirarme.

A todo el personal del Servicio de Microbiología Clínica del Hospital Clínico San Carlos, facultativos, residentes y técnicos por su enseñanza, por compartir conmigo su experiencia y por haberme hecho sentir parte de un equipo.

A José Manuel Viñuela Prieto, por tantas horas compartidas, por su generosidad, su paciencia, su ánimo, sus consejos y el respaldo prestado en la parte estadística del trabajo.

Al Dr. Juan González del Castillo, por encontrar en él a una persona siempre predispuesta a dar asesoramiento y a ayudar en la realización de los artículos.

A otros compañeros del hospital que forman parte de mi día a día y con los que nunca dejo de aprender cosas.

A la Dra. Maria Jesús García García, por su constante atención para completar la investigación durante el proceso de elaboración de esta tesis.

A mis abuelos y a Lucas, que siempre estarán en mi recuerdo.

A mis padres, por habérmelo dado todo en esta vida y ser un ejemplo de cariño, dedicación y de infinito apoyo en los buenos y malos momentos.

A mi hermana, Juan, Berta, Carlota, Puskas y Carlos, porque sin vosotros esta tesis tampoco hubiese sido realidad.

## ÍNDICE

<b>ABREVIATURAS Y SIGLAS</b> .....	1
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	5
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	9
<b>RESUMEN</b> .....	13
<b>ABSTRACT</b> .....	19
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	23
1. La familia <i>Enterobacteriaceae</i> .....	26
2. Antibióticos carbapenémicos.....	32
2.1 Mecanismo de acción.....	33
2.2 Espectro y actividad antimicrobiana.....	33
3. $\beta$ -lactamasas.....	36
3.1 Clasificación.....	37
3.2 Carbapenemasas.....	38
3.2.1 Carbapenemasas de clase A.....	40
3.2.2 Carbapenemasas de clase B.....	41
3.2.3 Carbapenemasas de clase D.....	41
3.3 Otros mecanismos de resistencia a los carbapenémicos.....	42
4. Enterobacterias productoras de carbapenemasa.....	43
4.1 Epidemiología.....	43
4.1.1 EPC tipo KPC.....	43
4.1.2 EPC tipo VIM.....	44
4.1.3 EPC tipo OXA-48.....	45
4.2 Factores de riesgo asociados a colonización e infección.....	50
4.3 Tratamiento.....	53
<b>OBJETIVOS</b> .....	61
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	65
1. Definición y recogida de variables.....	67
2. Identificación de los microorganismos.....	69
3. Detección fenotípica de carbapenemasas.....	72
3.1 Test de Hodge modificado.....	72
3.2 Test de sinergia con EDTA.....	73

3.3 Test de sinergia con PBA .....	73
4. Métodos moleculares.....	74
4.1 Extracción del ADN .....	74
4.2 Amplificación de los genes que codifican para carbapenemasas .....	74
4.3 Detección de los amplificadores por electroforesis en geles de agarosa .....	76
4.4 Caracterización molecular. rep-PCR automatizada .....	76
5. Análisis estadístico .....	78
<b>RESULTADOS</b> .....	79
1. Características clínicas y epidemiológicas .....	82
2. Aislados bacterianos .....	88
3. Distribución temporal de los diferentes genotipos.....	92
4. Características de sensibilidad a los antimicrobianos .....	96
4.1 Antimicrobianos carbapenémicos .....	96
4.2 Antimicrobianos no $\beta$ -lactámicos .....	97
5. Antimicrobianos pautados .....	99
6. Resistencia intratratamiento .....	106
7. Factores de utilidad clínica para distinguir colonización e infección urinaria en pacientes con aislamiento urinario de EPC .....	111
<b>DISCUSIÓN</b> .....	119
1. Características clínico-epidemiológicas y microbiológicas.....	121
2. Características de resistencia a antibióticos e implicaciones terapéuticas .....	133
3. Desarrollo de resistencia intratratamiento .....	139
4. Factores de utilidad clínica para discriminar entre colonización e infección urinaria en pacientes con aislamiento urinario de EPC .....	145
<b>CONCLUSIONES</b> .....	151
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	157
<b>ANEXO</b> .....	175

## **ABREVIATURAS Y SIGLAS**



**AmpC** Adenosinmonofosfato cíclico

**BGN** Bacilos Gram negativos

**blaIMP** Gen que codifica la metalobetalactamasa IMP

**blaKPC** Gen que codifica la carbapenemasa KPC

**blaNDM** Gen que codifica la metalobetalactamasa NDM

**blaOXA-48** Gen que codifica la carbapenemasa OXA-48

**BLEE** Beta-lactamasa de espectro extendido

**CDC** Centers for Disease Control and Prevention

**CLSI** Clinical and Laboratory Standards Institute

**CMI** Concentración mínima inhibitoria

**CMI<sub>50</sub>** Concentración mínima inhibitoria capaz de inhibir al 50% de la población bacteriana

**CMI<sub>90</sub>** Concentración mínima inhibitoria capaz de inhibir al 90% de la población bacteriana

**CVC** Catéter venoso central

**DM** Diabetes mellitus

**DT** Desviación estándar

**ECDC** Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades

**EDTA** Ácido etilendiaminotetraacético

**EPINE** Estudio de prevalencia de las infecciones nosocomiales en España

**EPC** Enterobacterias productoras de carbapenemasa

**EPC-KPC** Enterobacterias productoras de carbapenemasa KPC

**EPC-OXA-48** Enterobacterias productoras de carbapenemasa OXA-48

**EPC-VIM** Enterobacterias productoras de carbapenemasa VIM

**EPOC** Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

**EUCAST** European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

**EuSCAPE** European Survey on carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*

**EVP** Enfermedad vascular periférica

**FDA** Food and Drug Administration

**HC** Hemocultivo

**HCSC** Hospital Clínico San Carlos

**IAM** Infarto agudo de miocardio

**ICC** Insuficiencia cardiaca congestiva

**ITU** Infección del tracto urinario

**IPPB** Infección de piel y partes blandas

**L** Litro

**MALDI** Matrix Assisted Laser Desorption-Ionization (desorción/ionización mediante láser asistida por matriz)

**MBL** Metalobetalactamasa

**mg** Miligramo

**ml** Mililitro

**MgCl<sub>2</sub>** Cloruro de magnesio

**MH** Mueller Hinton

**mM** Milimolar

**MU** Millones de Unidades

**NaCl** Cloruro de sodio

**NDM** New Delhi metalobetactamasa

**PE** Perfusión extendida

**pb** Pares de bases

**PBA** Ácido fenilborónico

**PBP** Penicillin binding proteins (Proteínas de unión a la penicilina)

**PCR** Polimerase Chain Reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)

**PVRA-CNM** Programa de Vigilancia de la Resistencia a Antibióticos del Centro Nacional de Microbiología

**R** Resistente

**RIQ** Rango intercuartílico

**rpm** Revoluciones por minuto

**S** Sensible

**SIDA** Síndrome de inmunodeficiencia adquirida

**SV** Sondaje vesical

**TGI** Tracto gastrointestinal

**UCI** Unidad de cuidados intensivos

**UFC** Unidades formadoras de colonias

**µg** Microgramos

**µl** Microlitro

**VIM** Verona integron-encoded metallo-β-lactamase

**VM** Ventilación mecánica

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Distribución de los microorganismos aislados en las infecciones comunitarias y nosocomiales según EPINE 2016.....	<b>30</b>
<b>Tabla 2.</b> Clases de carbapenemasas más prevalentes en enterobacterias.....	<b>39</b>
<b>Tabla 3.</b> Concentraciones de los antibióticos carbapenémicos incluidos en los paneles de cada sistema de detección.....	<b>70</b>
<b>Tabla 4.</b> Puntos de corte de los antimicrobianos estudiados.....	<b>72</b>
<b>Tabla 5.</b> Secuencia de los iniciadores y condiciones utilizadas para la amplificación .....	<b>75</b>
<b>Tabla 6.</b> Mezcla de reacción utilizada en la reacción de amplificación para la caracterización genotípica mediante rep-PCR automatizada (Diversilab™).....	<b>77</b>
<b>Tabla 7.</b> Distribución de los aislados resistentes a los carbapenémicos de cada carbapenemasa caracterizada .....	<b>97</b>
<b>Tabla 8.</b> Esquemas terapéuticos prescritos en función del tipo de carbapenema aislada .....	<b>101</b>
<b>Tabla 9.</b> Tratamiento prescrito en infecciones de orina.....	<b>102</b>
<b>Tabla 10.</b> Tratamiento prescrito en IPPB.....	<b>103</b>
<b>Tabla 11.</b> Tratamiento prescrito en infección respiratoria .....	<b>104</b>
<b>Tabla 12.</b> Tratamiento prescrito en infección de herida quirúrgica.....	<b>104</b>
<b>Tabla 13.</b> Tratamiento prescrito en bacteriemias .....	<b>105</b>
<b>Tabla 14.</b> Tratamiento prescrito en infección intraabdominal .....	<b>105</b>
<b>Tabla 15.</b> Características de los casos que desarrollaron resistencia intratratamiento .....	<b>110</b>
<b>Tabla 16.</b> Características de los pacientes en función de si tenían colonización o infección del tracto urinario.....	<b>114</b>
<b>Tabla 17.</b> Variables independientes asociadas a infección y colonización en pacientes con aislamiento de EPC en orina .....	<b>117</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Prevalencia de las enterobacterias productoras de carbapenemasa en Europa en 2013 .....	<b>47</b>
<b>Figura 2.</b> Distribución de las enterobacterias productoras de carbapenemasa en Europa. Informe EuSCAPE 2015.....	<b>48</b>
<b>Figura 3.</b> Distribución de las enterobacterias productoras de carbapenemasa según los servicios en las que fueron aisladas.....	<b>83</b>
<b>Figura 4.</b> Distribución de las carbapenemasas por áreas médicas.....	<b>84</b>
<b>Figura 5.</b> Distribución de las carbapenemasas por áreas quirúrgicas.....	<b>84</b>
<b>Figura 6.</b> Enfermedades de base en los pacientes con aislamiento de EPC....	<b>85</b>
<b>Figura 7.</b> Distribución de la antibioterapia recibida en los 2 meses previos....	<b>87</b>
<b>Figura 8.</b> Distribución de especies bacterianas productoras de carbapenemasa .....	<b>88</b>
<b>Figura 9.</b> Distribución de las especies bacterianas según el tipo de muestra en las que fueron aisladas .....	<b>89</b>
<b>Figura 10.</b> Número de casos de infección según la muestra clínica.....	<b>90</b>
<b>Figura 11.</b> Distribución de las carbapenemasas según la especie y el tipo de enzima .....	<b>91</b>
<b>Figura 12.</b> Distribución enzimática según el tipo de muestra en las que fueron aisladas.....	<b>92</b>
<b>Figura 13.</b> Distribución de las carbapenemasas en los 2 periodos de tiempo estudiados.....	<b>93</b>
<b>Figura 14.</b> Distribución del tipo de carbapenemasa por áreas .....	<b>94</b>
<b>Figura 15.</b> Distribución de las carbapenemasas a lo largo del periodo del estudio.....	<b>95</b>
<b>Figura 16.</b> Distribución de resistencia a antibióticos no $\beta$ -lactámicos .....	<b>98</b>
<b>Figura 17.</b> Porcentaje de resistencia a los antimicrobianos no $\beta$ -lactámicos por tipo de carbapenemasa.....	<b>99</b>
<b>Figura 18.</b> Distribución del tratamiento prescrito. Monoterapia y terapia combinada.....	<b>100</b>
<b>Figura 19.</b> Dendograma de cepas de enterobacterias productoras de carbapenemasa que desarrollaron resistencia intratratamiento.....	<b>109</b>

**Figura 20.** Curva ROC y área bajo la curva (AUC) del modelo predictivo de infección urinaria en pacientes con aislamiento de EPC en orina.....**117**



## **RESUMEN**

Las carbapenemasas son enzimas que pueden hidrolizar los carbapenémicos y muchos otros antibióticos betalactámicos ( $\beta$ -lactámicos). Con frecuencia las enterobacterias productoras de carbapenemasa (EPC) presentan corresponsencia a otras familias de antibióticos no  $\beta$ -lactámicos, por lo que es habitual la existencia de casos de resistencia extensa o panresistencia, frente a los cuales las alternativas de tratamiento antibiótico son subóptimas. Las EPC están ampliamente diseminadas por todo el mundo, pero la epidemiología local y las características clínicas varían en cada centro. Debido al incremento de infecciones/colonizaciones por EPC que se iba produciendo en el Hospital Clínico San Carlos, el objetivo de este estudio fue conocer la epidemiología, las características microbiológicas y clínicas de las EPC y de los pacientes en nuestro hospital.

Un conocimiento profundo de los patrones de distribución epidemiológicos y de las características clínicas y microbiológicas de los pacientes portadores de EPC de cada hospital es fundamental para optimizar la terapia antimicrobiana y las medidas de control para evitar su diseminación. El presente estudio presenta un diseño de cohortes retrospectivo realizado entre los años 2013 y 2015 en el servicio de Microbiología Clínica de nuestro hospital. Se seleccionaron las enterobacterias procedentes de cualquier muestra clínica que presentaron en el antibiograma un fenotipo compatible con la producción de una carbapenemasa. Se evaluaron las características microbiológicas y epidemiológicas, estudiando la frecuencia de los principales factores de riesgo, el comportamiento clínico y la evolución.

En este estudio, 150 EPC fueron identificadas, la mayoría de estos pacientes tenían una edad avanzada, una elevada comorbilidad (índice de Charlson  $\geq 3$ ) y frecuentemente existía el antecedente médico de neoplasia activa. Los principales factores predisponentes al aislamiento de EPC fueron una estancia hospitalaria prolongada, la exposición previa a tratamiento antimicrobiano y la instrumentalización (sobre todo cateterización urinaria y venosa central). Más de la mitad de los aislamientos de EPC procedentes de muestras clínicas tuvieron significación infecciosa, comportándose en un tercio de las ocasiones como colonización. Los modelos de infección más frecuentes fueron infección urinaria seguida de IPPB secundaria (úlceras). Se observó que el tratamiento previo con carbapenémicos se relacionó muy frecuentemente con el aislamiento de EPC. Sin embargo, un elevado número de pacientes habían recibido además cefalosporinas, quinolonas, penicilinas y/o penicilinas con inhibidores. Se identificaron las especies *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *S. marcescens*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. coli* y *P. stuartii*, pero la especie donde más frecuentemente se detectaron carbapenemasas fue *K. pneumoniae*. Las EPC de tipo OXA-48 y KPC se detectaron en una proporción similar en pacientes ingresados, pero en las muestras clínicas que procedían del área predominaban las OXA-48. En cuanto a los carbapenémicos meropenem, fue el carbapenémico más activo y casi todos los aislados fueron resistentes a ertapenem, además imipenem y meropenem presentaron CMI  $\leq 8$  mg/L en un elevado porcentaje de EPC, permitiendo esta situación el empleo de estos fármacos en combinación y en perfusión extendida. Amikacina fue el antibiótico que con mayor frecuencia mantuvo actividad in vitro frente a las EPC con

independencia de la especie y del tipo de enzima. La combinación de amikacina y tigeciclina fue el esquema terapéutico más pautado para el tratamiento de las infecciones por EPC. Un tercio de los pacientes con aislamiento de EPC fallecieron a los 30 días, comportándose el aislamiento de EPC, aun sin ser responsable directo, en un indicador pronóstico.

## **ABSTRACT**

Carbapenemases are enzymes that can hydrolyze carbapenems and many other  $\beta$ -lactam antibiotics. Frequently carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) present resistance to other families of non- $\beta$ -lactam antibiotics, so it is common to have cases of extensive resistance or pan-resistance, against which the alternatives of antibiotic treatment are suboptimal. CPE are widely disseminated throughout the world, but local epidemiology and clinical characteristics change in each hospital. Due to the increase of infections / colonization by CPE produced in hospital Clinico San Carlos, the objective of this study was to know the epidemiology, the microbiological and clinical characteristics of patients colonized or infected by CPE.

A thorough knowledge of the CPE's epidemiological distribution, clinical and microbiology characteristics in each hospital is fundamental for optimizing antimicrobial chemotherapy and control measures. Retrospective cohort study was performed between 2013 and 2015 in the department of Clinical Microbiology. *Enterobacteriaceae* strains were selected from any clinical sample that presented in the antibiogram a phenotype compatible with the production of carbapenemase. The clinical, microbiological and epidemiological characteristics were evaluated, studying the frequency of the main risk factors, clinical behavior and evolution. In this study, 150 CPE were identified, in most of these patients they had advanced age and high comorbidity (Charlson score  $\geq 3$ ). The main factors predisposing to the isolation of CPE were length of stay, previous antibiotic therapy and instrumentation (especially indwelling urinary catheter and central venous catheter). When we analysed the clinical

significance of microbiological results after assessing our patients, more than half of patients were considered infected and in one third of the cases behaved as colonizers. The most frequent kind of infection were urinary tract infection followed by skin and soft tissue infection (skin ulcers). Regarding the previous antibiotic therapy treatment with carbapenems was very frequently related to the isolation of CPE. However, a large number of patients had also received cephalosporines, fluoroquinolones, penicilins and/or penicilin with penicilinase inhibitors.

Were identified *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *S. marcescens*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. coli* and *P. stuartii*, but *K. pneumoniae* was the most isolated species. Regarding the types of carbapenemases detected OXA-48 and KPC were detected in a similar proportion in patients admitted, but OXA-48 predominated in patients whose clinical samples come from primary care. Meropenem was the most active carbapenem and almost all isolates were resistant to ertapenem, in addition isolates showed MIC  $\leq$  8 mg/L to imipenem and meropenem in a high percentage, allowing combinations of meropenem in extended perfusion. Amikacin was the antibiotic that most frequently maintained in vitro activity against CPE regardless of the species and the type of enzyme. The combination of amikacin and tigecycline was the most therapeutic regimen chosen for the treatment of CPE infections. One third of hospitalized patients with CPE isolation died within 30 days, regardless of whether they were colonized or infected, even without being directly responsible, could be a prognostic indicator.

## **INTRODUCCIÓN**



Las carbapenemasas son enzimas que pueden hidrolizar los carbapenémicos y muchos otros antibióticos betalactámicos ( $\beta$ -lactámicos). Con frecuencia, las enterobacterias productoras de carbapenemasa (EPC) presentan corresponsencia a otras familias de antibióticos no  $\beta$ -lactámicos, por lo que es habitual la existencia de casos de resistencia extensa o panresistencia, frente a los cuales las alternativas de tratamiento antibiótico son subóptimas (1). Los genes que codifican las carbapenemasas con mayor relevancia clínica y epidemiológica tienen en su mayoría localización plasmídica y se transfieren y expresan con facilidad en diversas especies de bacilos gramnegativos (BGN) y, más frecuentemente, entre especies de enterobacterias. Por estas razones y debido a la rápida diseminación producida a nivel mundial durante los últimos años, se han convertido en un problema para los sistemas de salud muy trascendente que tiene repercusión a nivel hospitalario y comunitario debido a la complejidad del problema y a la carga económica y humana que suponen. La situación actual de resistencia a los antimicrobianos, unida a la falta de desarrollo de comercialización de nuevas moléculas, nos ha llevado a una difícil etapa conocida como "crisis antibiótica". La magnitud del problema de la resistencia antimicrobiana y sus consecuencias ha alcanzado tales proporciones que la crisis antibiótica es considerada como uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial (2, 3).

Las estrategias que debemos utilizar para abordar con ciertas garantías el problema de la resistencia a los antimicrobianos son varias: fomentar el desarrollo de nuevos antibióticos con actividad frente a los microorganismos multirresistentes, implementar estrategias de prevención y control de la

transmisión de los mismos, tanto en el ámbito comunitario como hospitalario y por último, optimizar la utilización de antimicrobianos.

## **1. La familia *Enterobacteriaceae***

El microbioma hace referencia al número total de microorganismos que forman parte de nuestro cuerpo y a los genomas que albergan. El conocimiento sobre la importancia de estas poblaciones en nuestro estado de salud ha ido en aumento en los últimos años, siendo el objeto de numerosos estudios. Dentro del microbioma humano, el intestinal posee unas características especialmente relevantes por su diversidad y complejidad, siendo el colon el órgano más densamente poblado del cuerpo humano (4).

De entre las diferentes poblaciones de la microbiota intestinal humana, destacaremos a la familia *Enterobacteriaceae*. La familia de las enterobacterias incluye un grupo heterogéneo de bacterias gramnegativas que comprende más de 50 géneros (y cientos de especies), algunos de los cuales son patógenos para el ser humano. Los géneros *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia* y algunas especies de *Escherichia coli* y *Klebsiella rhinoscleromatis* se consideran patógenos primarios, mientras que otras especies de esta familia como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* (denominado actualmente *Klebsiella aerogenes*, pero en ese trabajo se va a denominar *Enterobacter aerogenes*), *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii* y *Morganella morganii*, entre

otras, forman parte de la microbiota normal y se denominan patógenos oportunistas, ya que tienen la capacidad de colonizar otros tejidos y cavidades cuando las características del entorno se lo permiten; de esta manera, son capaces de causar infecciones (5).

Para que se produzca la transición del microorganismo comensal al patógeno, deben producirse ciertas alteraciones en el huésped, permitiendo la infección de cualquier órgano o tejido y dando lugar a una amplia variedad de infecciones con distintos grados de severidad.

En una aproximación entre los múltiples factores predisponentes a la infección por enterobacterias comensales, podemos distinguir dos tipos:

• **Factores predisponentes locales:** son los que facilitan la penetración microbiana por rotura de las barreras mucocutáneas. Es el caso de heridas quirúrgicas o traumáticas, quemaduras, sondajes, catéteres y drenajes. También la presencia de material protésico, las patologías locales (litiasis, isquemia local) y algunas maniobras diagnósticas o terapéuticas (intubación, endoscopia, cistoscopia...).

• **Factores predisponentes generales:** en su mayoría son debidos a alteraciones directas o indirectas en el sistema inmune, como ocurre en las enfermedades crónicas o sistémicas (diabetes, cirrosis, insuficiencia renal, enfermedades hematológicas, enfermedades autoinmunes), inmunosupresión farmacológica en trasplantados y pacientes con neoplasias y en las edades extremas por falta de madurez (neonatos) o disfunción (ancianos) inmunitaria.

Las enterobacterias son los agentes etiológicos más frecuentes de infección del tracto urinario a nivel comunitario en adultos y de infección urinaria asociada a catéter vesical. Además, son causa importante de neumonías, especialmente neumonías nosocomiales con alta tasa de mortalidad. Aparte de las infecciones urinarias y de las neumonías, producen infecciones en heridas y tejidos cutáneos, infecciones en dispositivos intravasculares, infecciones de la vía biliar, peritonitis y meningitis. Además, *K. pneumoniae* es la segunda causa de bacteriemia por BGN tras *E. Coli* (6).

*E. coli* es el coliforme aerobio más frecuente del tracto gastrointestinal (TGI). La mayor parte de los aislados de *E. coli* que se encuentran colonizando el TGI mantienen una relación simbiótica con las células intestinales y persisten en el hospedador durante meses o años, causando infecciones únicamente como patógenos oportunistas (7). Sin embargo, el genoma de *E. coli* es altamente flexible, por lo que la adquisición de determinados factores de virulencia y de resistencia por parte de cepas comensales puede dar lugar a patógenos altamente adaptados causantes tanto de infecciones intestinales como extraintestinales graves. Aunque es el principal agente responsable de infecciones comunitarias (primera causa de infecciones del tracto urinario y bacteriemia), también es el principal causante de infecciones nosocomiales (8).

*K. pneumoniae* tiene como hábitat principal las superficies mucosas de humanos y otros mamíferos, principalmente el TGI y el nasofaríngeo. A diferencia de *E. coli*, esta enterobacteria también tiene como hábitat natural distintos nichos ambientales como el agua, el suelo o las plantas. Es inmóvil y posee una cápsula polisacárida que le confiere virulencia y aspecto mucoso

(9). Aunque puede generar infecciones de origen comunitario, *K. pneumoniae* es considerado un importante patógeno nosocomial y se asocia con frecuencia a brotes hospitalarios y a altas tasas de mortalidad (6, 10). Las manos del personal sanitario son consideradas la principal vía de transmisión de esta enterobacteria, especialmente de determinados clones epidémicos (clones de alto riesgo) que están bien adaptados al medio sanitario y que han adquirido factores de virulencia o genes de resistencia a antibióticos mediante elementos genéticos móviles. Las enfermedades subyacentes y las alteraciones del sistema inmunológico de los pacientes, así como la antibioterapia previa y las largas estancias hospitalarias, son considerados importantes factores de riesgo para la colonización y posterior infección por cepas epidémicas de *K. pneumoniae*. Otras enterobacterias, como *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Morganella* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp. o *K. oxytoca*, también pueden producir infección en el ámbito hospitalario, aunque en menor proporción (9, 11).

Los datos del Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España en el contexto del *European Prevalence Survey of Healthcare Associated Infections and Antimicrobial Use* en 2016 (EPINE-EPPS 2016) muestran que las enterobacterias son los microorganismos que se aíslan con más frecuencia tanto en las infecciones nosocomiales, como en las infecciones de origen comunitario atendidas en los hospitales participantes en el estudio (Tabla 1).

**Tabla 1.** Distribución de los microorganismos aislados en las infecciones comunitarias y nosocomiales según los grupos obtenido del Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España (EPINE) en el año 2016. (Fuente: [http://hws.vhebron.net/epine/Global/EPINE-EPPS\\_2016\\_Informe\\_Global\\_de\\_España\\_Resumen.pdf](http://hws.vhebron.net/epine/Global/EPINE-EPPS_2016_Informe_Global_de_España_Resumen.pdf)).

Agrupación de microorganismos	TOTAL		NOSOCOMIALES		COMUNITARIAS	
	N	%	N	%	N	%
<b>N total de microorganismos aislados</b>	10460	100.00%	4383	100.00%	6077	100.00%
Cocos Gram +	3140	30.02%	1470	33.54%	1670	27.48%
Cocos Gram -	54	0.52%	13	0.30%	41	0.67%
Bacilos Gram +	92	0.88%	33	0.75%	59	0.97%
Bacilos Gram - Enterobacterias	3863	36.93%	1680	38.33%	2183	35.92%
Bacilos Gram - No fermentadores	1187	11.35%	612	13.96%	575	9.46%
Otros bacilos Gram -	230	2.20%	52	1.19%	178	2.93%
Bacilos anaerobios	393	3.76%	190	4.33%	203	3.34%
Otras bacterias	179	1.71%	2	0.05%	177	2.91%
Levaduras y otros hongos unicelulares	536	5.12%	305	6.96%	231	3.80%
Hongos filamentosos	95	0.91%	5	0.11%	90	1.48%
Protozoos	39	0.37%	3	0.07%	36	0.59%
Virus	652	6.23%	18	0.41%	634	10.43%
Microorganismo no identificado	615	-	115	-	500	-
No se ha realizado cultivo u otra prueba de laboratorio	3432	-	643	-	2789	-
Resultado negativo en el cultivo u otra prueba de laboratorio	1773	-	345	-	1428	-
Resultado no disponible o perdido	2689	-	611	-	2078	-

N: Número de microorganismos aislados

%: Porcentaje sobre el total

Desde el punto de vista microbiológico, las enterobacterias se caracterizan por ser anaerobias facultativas con forma de bacilos o cocobacilos y su tamaño oscila entre 1-3  $\mu\text{m}$  de largo y 0,5  $\mu\text{m}$  de diámetro. No forman esporas y pueden ser móviles o inmóviles. Son catalasa positiva, oxidasa negativa, reducen los nitratos a nitritos y son capaces de degradar la glucosa junto a una gran variedad de hidratos de carbono, lo que ha servido tradicionalmente para la identificación bioquímica a nivel de especie.

Las enterobacterias poseen unas características estructurales que constituyen importantes factores de virulencia, como son la presencia de

fimbrias, cápsula y el lipopolisacárido (LPS) de la pared celular. La mayoría pueden producir fimbrias o pili cuya función es unirse a otras bacterias y a las células del huésped; además, hay especies que producen cápsula de polisacáridos que evita la activación del complemento y la fagocitosis. La pared celular de las enterobacterias tiene una estructura multilaminar. La membrana interna es una doble capa de fosfolípidos que regula el paso de nutrientes y metabolitos. La siguiente capa, la capa externa, consiste en un peptidoglucano junto con un espacio periplásmico que contiene gran cantidad de proteínas.

La membrana externa compleja consiste en otra doble capa de fosfolípidos que incluyen LPS (en la parte más externa), lipoproteínas (que están fijadas al peptidoglucano), proteínas porinas multiméricas (que facilitan el paso de diversas sustancias, incluidos los antibióticos  $\beta$ -lactámicos) y otras proteínas de la membrana externa. El LPS está formado por un oligosacárido de repetición con capacidad antigénica que se conoce como antígeno O y una parte lipídica que constituye un importante factor de virulencia denominado lípido A o endotoxina. Los pili sexuales son estructuras presentes en las bacterias que contienen plásmidos conjugativos y que las bacterias utilizan para mediar la transferencia conjugativa de ADN del plásmido.

Es muy frecuente entre las enterobacterias la presencia de elementos genéticos móviles: plásmidos, transposones y profagos que codifican nuevos antígenos, factores de virulencia (toxinas), rutas metabólicas alternativas y resistencia a antibióticos.

Aunque la transferencia de genes cromosómicos (recombinación) es poco habitual entre las enterobacterias, la transferencia de elementos genéticos

móviles es un fenómeno altamente frecuente tanto entre bacterias de la misma especie como entre géneros diferentes.

## 2. Antibióticos carbapenémicos

El origen de los carbapenémicos se remonta a 1979, cuando se publica el descubrimiento de la tienamicina, un producto natural obtenido a partir de la bacteria grampositiva *Streptomyces catleya* (12). Se dividen en dos grupos en función de su actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa*. El primer grupo incluye tres carbapenems (imipenem, meropenem y doripenem) con marcada actividad antipseudomónica, que son empleados en el tratamiento de infecciones graves polimicrobianas o causadas por BGN resistentes a cefalosporinas y aminoglucósidos. El meropenem es el más indicado para tratar infecciones graves mixtas adquiridas en el hospital o relacionadas con la asistencia sanitaria. El segundo grupo de carbapenems incluye antibióticos con actividad muy limitada frente a *P. aeruginosa*. El único miembro de este grupo actualmente comercializado es el ertapenem y está indicado en el tratamiento empírico de infecciones intraabdominales, de partes blandas y neumonías aspirativas producidas por enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), incluyendo infecciones graves de origen comunitario.



## 2.1 Mecanismo de acción

Inhiben la síntesis de la pared bacteriana durante la transpeptidación, uniéndose a residuos de serina del centro activo de enzimas transpeptidasas, que se encuentran en la cara externa de la membrana citoplasmática, denominadas también PBPs (*Penicillin Binding Proteins*, proteínas que fijan penicilinas). Para ejercer su acción deben acceder a las PBPs atravesando la pared celular, lo que es fácil en grampositivos, pero más complicado en gramnegativos, aunque gracias a sus características estructurales pueden acceder a las PBPs de las bacterias gramnegativas a través de las porinas de la membrana externa.

Por otro lado, los  $\beta$ -lactámicos también debilitan la pared bacteriana y producen la lisis bacteriana. Por todo ello se comportan habitualmente como antibióticos bactericidas (13, 14). Los carbapenémicos muestran una elevada afinidad por múltiples PBP fundamentales en gramnegativos, especialmente por las PBP de alto peso molecular 1a, 1b, 2 y 3. La mayor afinidad por las PBP-1a y 1b, en comparación con otros  $\beta$ -lactámicos, determina un mayor y más rápido efecto bactericida (15).

## 2.2 Espectro y actividad antimicrobiana

Los antibióticos carbapenémicos tienen el espectro antibacteriano más amplio de la clase de los  $\beta$ -lactámicos, sobre todo porque son estables frente a las  $\beta$ -lactamasas. Carecen de actividad frente a estafilococos resistentes a meticilina, enterococos resistentes a ampicilina y *Stenotrophomonas maltophilia* entre otros. El amplio espectro de actividad de los carbapenémicos

viene determinado por la capacidad de penetrar a través de la pared de los gramnegativos por la alta afinidad que tienen por las PBP (especialmente PBP2), esenciales en muchas especies y por la elevada resistencia a muchas  $\beta$ -lactamasas de grampositivos y gramnegativos (14).

Frente a enterobacterias, todos los carbapenémicos poseen una elevada actividad intrínseca, aunque doripenem es similar o ligeramente superior a meropenem y ertapenem. En términos de CMI<sub>90</sub>, doripenem, meropenem y ertapenem son similares y aproximadamente cuatro veces más activos que imipenem. Meropenem y ertapenem son más activos que doripenem frente a *Proteus spp.*, *Morganella spp.*, *Providencia spp.* Y *Salmonella spp.*

Todos los carbapenémicos son estables frente a la mayoría de las  $\beta$ -lactamasas clínicamente significativas (BLEE y AmpC), pero hay diferencias entre ellos. La producción de BLEE no suele traducirse en un aumento significativo de CMI, excepto en el caso de ertapenem. Este hecho puede suponer, aunque no necesariamente, resistencia a este último, manteniéndose la sensibilidad al resto (16). Las cepas de *E. cloacae* y *Citrobacter spp.* con resistencia mediada por producción de AmpC poseen CMI<sub>90</sub> frente a doripenem y meropenem cuatro veces superiores a las de las cepas salvajes, aunque se mantiene dentro de los rangos de sensibilidad.

En cuanto a la farmacocinética, los parámetros de meropenem e imipenem son semejantes, y para imipenem la farmacocinética intramuscular es similar a la intravenosa. Penetran de forma adecuada en la mayor parte de los fluidos y tejidos corporales aunque el acceso de imipenem y ertapenem a líquido cefalorraquídeo es limitado. En las meningitis, meropenem alcanza

valores superiores a las CMI de los agentes etiológicos más habituales. Todos se eliminan por hemodiálisis.

Los carbapenémicos, como el resto de los  $\beta$ -lactámicos, son antimicrobianos con actividad dependiente del tiempo. Por este motivo, su principal parámetro de efectividad posológica es el denominado "tiempo por encima de la CMI" ( $T > CMI$ ), es decir, el tiempo (en porcentaje) del intervalo de dosificación en el que la concentración de antimicrobiano supera a la CMI de las bacterias diana. Por su elevado poder bactericida, efecto postantibiótico y elevada afinidad por las PBP, los carbapenémicos requieren un  $T > CMI$  menor que otros  $\beta$ -lactámicos.

Meropenem e imipenem tienen una probabilidad cercana al 100% de superar el 40% del  $T > CMI$ , mientras que en ertapenem esta probabilidad es ligeramente inferior, del orden del 94%. Los carbapenémicos son los antibióticos de elección en el tratamiento de infecciones producidas por bacterias productoras de BLEE. Meropenem e imipenem muestran probabilidades de alcanzar valores de  $T > CMI$  del 40% similares a las obtenidas en cepas no productoras de BLEE, mientras que ertapenem no supera el 78% (14).

En conclusión, la eficacia terapéutica puede mejorarse utilizando dosis más elevadas, disminuyendo el intervalo terapéutico o prolongando el tiempo de perfusión sin incrementar la dosis. En este sentido, se ha demostrado que la disminución del intervalo terapéutico ofrece una mayor seguridad de alcanzar un  $T > CMI$  prologado y un mayor poder bactericida que la utilización de dosis elevadas (14).

### 3. $\beta$ -lactamasas

En la década de los 70, se comenzaron a describir las primeras resistencias a  $\beta$ -lactámicos en bacterias gramnegativas (17). En el caso de las enterobacterias, la producción de  $\beta$ -lactamasas es el mecanismo de resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos más importantes por su frecuencia y eficacia. Los genes que codifican estas enzimas pueden encontrarse en el cromosoma o en plásmidos.

A través de los años se descubrieron nuevos mecanismos de resistencias y se clasificaron en varias clases o categorías. Los más frecuentes fueron la producción de  $\beta$ -lactamasas de clase A, que fueron denominadas como  $\beta$ -lactamasas de amplio espectro y las de clase C, como cefaloporinasas, que inactivaban las cefalosporinas de espectro extendido (18). Estas resistencias se transmitían a través de plásmidos entre bacterias, que conferían resistencia no solo a determinados  $\beta$ -lactámicos, sino también a otros antibióticos como aminoglucósidos, trimetoprim, sulfonamidas, tetraciclinas y, en especial, a las quinolonas. Esto llevó a los carbapenémicos a ser la opción terapéutica más adecuada en estos casos. El aumento del uso de las carbapenémicos para tratar estas cepas resistentes llevó a la aparición de nuevas cepas de *K. pneumoniae* productoras de  $\beta$ -lactamasas capaces de hidrolizar a estos antibióticos (cepas productoras de carbapenemasas) (19), dejando a la comunidad médica con menos opciones terapéuticas para combatir esta infección. Asimismo, el uso de carbapenémicos para el tratamiento de estas infecciones conlleva a un consumo mantenido generando un aumento de las CMI a éstos antibióticos en las EPC, esto hace que aumente su prevalencia y su nivel de resistencia.

Actualmente, *K. pneumoniae* se ha convertido en el principal reservorio de plásmidos transmisibles de genes *bla*, que son los que codifican las enzimas carbapenemasas, además existe la transferencia del gen *bla*OXA-48 de *K.pneumoniae* a *E.coli*, que ya se ha empezado a detectar en algunos estudios recientes y puede suponer un importante cambio epidemiológico caracterizado por un aumento de las infecciones por EPC adquiridas en la comunidad (20). La diseminación mundial de estas cepas resistentes ha alcanzado en estos últimos años proporciones epidémicas en muchas áreas del mundo, como en los países del sur de Europa, en Norteamérica, en la India y en el Extremo Oriente (21, 22).

### 3.1 Clasificación

En 1980, Ambler clasifica a las  $\beta$ -lactamasas en cuatro clases en función de su estructura molecular: A, B, C y D (23). Las enzimas de los grupos A, C y D son serin- $\beta$ -lactamasas, que contienen una serina en su centro activo, y las del grupo B son metalo- $\beta$ -lactamasas (MBL), dependientes de  $Zn^{+2}$ . En 1988, Bush propone una clasificación en la que relaciona el tipo de sustrato, la capacidad inhibitoria y la estructura molecular de las enzimas (24). Esta clasificación, se revisó en 1995 por Bush, Jacoby y Medeiros (25) y se actualizó por Bush y Jacoby en el año 2010 (26). Tanto la clasificación de Bush-Jacoby como la de Ambler están relacionadas y son las que se utilizan en la actualidad.

- **Grupo 1.** Las  $\beta$ -lactamasas de este grupo se corresponden con la clase molecular C de Ambler. Pertenecen a este grupo cefalosporinasas que no son

inhibidas por el ácido clavulánico. La mayoría de ellas son cromosómicas y se encuentran en *P.aeruginosa* y en algunas especies de enterobacterias. También pertenecen a este grupo enzimas codificadas en plásmidos, cuyo perfil de resistencia es indistinguible de las otras.

- **Grupo 2.** En este grupo se incluye un gran número de enzimas que son sensibles a la acción de los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas y que se relaciona con las clases A (la mayor parte) y D de Ambler. En su mayoría son plasmídicas. Existen 12 subgrupos en función de los sustratos que hidrolizan.

- **Grupo 3.** Incluye enzimas de la clase molecular B de Ambler. Son MBL que requieren para actuar de la unión de  $Zn^{+2}$  a su centro activo y que se inhiben por agentes quelantes como el EDTA, pero que no se inhiben por el ácido clavulánico o por tazobactam. Son capaces de hidrolizar diferentes tipos de sustratos. En su mayoría son cromosómicas.

-**Grupo 4** (incluido en la clasificación inicial, no aparece en la actualización del año 2010). Este grupo engloba las penicilinasas que no se inhiben por el ácido clavulánico. Todas ellas están codificadas en el cromosoma y sin clasificación, según los criterios de Ambler. Estas enzimas podrían ser clasificadas en los grupos anteriores, pero hasta el momento no están completamente caracterizadas.

### **3.2 Carbapenemasas**

La aparición de resistencias a los carbapénemicos en enterobacterias puede producirse por dos mecanismos diferentes, como la adquisición de genes que codifican enzimas capaces de degradar los carbapenémicos o la

disminución en la expresión o funcionalidad de las porinas de membrana externa, que dificulta la penetración del antibiótico en el espacio periplásmico, junto con la sobreexpresión de  $\beta$ -lactamasas que poseen baja afinidad por los carbapenémicos. Las carbapenemasas, como el resto de  $\beta$ -lactamasas, actúan hidrolizando el anillo  $\beta$ -lactámico, inactivando las propiedades antibacterianas de la molécula. En enterobacterias se han identificado una gran variedad de carbapenememasas pertenecientes a tres clases moleculares en función de la clasificación de las  $\beta$ -lactamasas de Ambler: Clase A, B y D (Tabla 2).

**Tabla 2.** Clases de carbapenemasas más prevalentes en enterobacterias (27)

Grupo de carbapenemasas (clase molecular <sup>1</sup> y grupo funcional <sup>2</sup> )	Enzimas	Inhibición por			AZT	Microorganismos	Localización
		CLAV	EDTA	AVI			
Penicilinasas (A, 2f)	SME	±	-	+	R	<i>S. marcescens</i>	Cromosómica
	IMI, NMC					<i>E. cloacae</i>	
	KPC	+	-	+	R	Enterobacterias	Plasmídica
	GES	+	-	+	R	Enterobacterias, <i>P. aeruginosa</i>	Plasmídica
Metallo- $\beta$ -lactamasas (B,3)	L1	-	+	-	S/R	<i>S. maltophilia</i> , <i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Bacillus cereus</i>	Cromosómica
	CcrA Cpha BcII						
	IMP, SPM, SIM, GIM, VIM, AIM, DIM, KHM, NDM	-	+	-	S	Enterobacterias, <i>Pseudomonas</i> spp. Otros BGN no fermentadores	Plasmídica (ocasionalmente cromosómica)
Oxacilinasas (D, 2df)	OXA (OXA-48)	±	-	±	S	<i>A. baumannii</i> , <i>P. aeruginosa</i> , Enterobacterias	Cromosómica/ plasmídica

<sup>1</sup>Clasificación molecular de Ambler, <sup>2</sup>Clasificación funcional de Bush&Jacoby  
CLAV= ácido clavulánico; EDTA= ácido etilendiaminotetracético; AVI= Avibactam;  
AZT= Aztreonam; BGN= Bacilos gramnegativos.

Estas enzimas, además de los carbapenémicos, también hidrolizan otros  $\beta$ -lactámicos y dependiendo del tipo de carbapenemasa se observan variaciones en su espectro de actividad hidrolítica así como en los inhibidores. Algunas cefalosporinasas, muy poco frecuentes de localización cromosómica (clase C de

Ambler o AmpC) y producidas por enterobacterias poseen cierta actividad ampliada a los carbapenémicos, aunque su significación clínica está en debate (28).

### **3.2.1. Carbapenemasas de clase A**

Estas enzimas tienen capacidad de hidrolizar una amplia variedad de  $\beta$ -lactámicos, como las penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos y aztreonam. Dentro de las carbapenemasas de clase A, las que tienen una mayor trascendencia clínica e importancia epidemiológica son las denominadas KPC (29). Se llaman así por haberse aislado inicialmente en *K. pneumoniae*: *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*. Por tanto, fenotípicamente, las enzimas KPC hidrolizan penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos. Como excepción, tendrían una menor tasa de hidrólisis de las cefamicinas (cefexitina), aunque los valores de CMI que se obtienen suelen estar por encima del punto de corte de sensibilidad. Son parcialmente inhibidas por el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam, no se inhiben por el EDTA, pero sí por el ácido borónico, inhibidor que se utiliza para el reconocimiento fenotípico. No obstante, la inhibición por el ácido borónico no es exclusiva de las enzimas KPC, ya que también es un inhibidor eficiente de las  $\beta$ -lactamasas de tipo AmpC (Clase C de Ambler y grupo 1 de Bush-Jacoby). Son de naturaleza plasmídica asociadas al trasposón Tn4401. Las enzimas KPC se han descrito no solo en *Enterobacteriaceae*, sino también en *P. aeruginosa* y en *Acinetobacter baumannii* (30, 31). Doce variantes han sido descritas (KPC-2 a KPC-13). Sin embargo, la más frecuente es la KPC-2 y la KPC-3 (32, 33).



### 3.2.2 Carbapenemasas de clase B

Las también llamadas metalo- $\beta$ -lactamasas tienen un perfil hidrolítico que incluye todos los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, con la excepción del aztreonam, y no son inhibidas por el ácido clavulánico, sulbactam ni tazobactam. Su función hidrolítica depende de la interacción del  $\beta$ -lactámico con el catión  $Zn^{2+}$  en el sitio activo, por esta razón son inhibidas por agentes quelantes de cationes divalentes como el EDTA. Las MBL de origen adquirido que con más frecuencia se encuentran en enterobacterias son del tipo IMP, VIM y recientemente las del tipo NDM (34).

### 3.2.3 Carbapenemasas de clase D

Las  $\beta$ -lactamasas de clase D, también denominadas oxacilinasas por su capacidad en hidrolizar la oxacilina y la penicilina, comprenden 232 enzimas de las que sólo unas pocas poseen actividad carbapenemasa. No hidrolizan cefalosporinas de espectro extendido y en general tienen una actividad carbapenemasa débil, que no se inhibe por el ácido clavulánico, ácido borónico ni agentes quelantes como el EDTA, aunque sí por el NaCl. La mayoría de las  $\beta$ -lactamasas de clase D con actividad carbapenemasa se han descrito en el género *Acinetobacter*, a excepción de la carbapenemasa OXA-48, que se ha descrito casi de manera exclusiva en especies de la familia *Enterobacteriaceae* (35, 36).

### 3.3 Otros mecanismos de resistencia a los carbapenémicos

Las bacterias resistentes a carbapenémicos no productoras de carbapenemasa habitualmente son menos resistentes a antibióticos de otras familias y la resistencia a los carbapenémicos no es transferible, así que estos mecanismos se consideran con menos trascendencia epidemiológica que los aislados productores de carbapenemasa. La membrana externa de las bacterias gramnegativas contiene unas proteínas llamadas porinas que forman canales hidrofílicos para permitir la entrada selectiva de nutrientes y otros compuestos como los antibióticos. Las porinas implicadas en la entrada de antibióticos en enterobacterias pertenecen a las familias OmpF ó OmpC. Cambios en el número o funcionalidad de estas proteínas pueden tener efectos en la susceptibilidad a los antibióticos (37). Por ejemplo, frecuentemente en el género *Enterobacter* spp. presentan una sobreexpresión de los genes que codifican para cefalosporinasa AmpC cromosómica y junto con modificaciones en las porinas OmpC y OmpF, provocan resistencia a los carbapenémicos. Mecanismos de resistencia similares también se han descrito en *Serratia* spp., *C. freundii* y *M. morganii*.

En estos casos, la resistencia se produce por la combinación de la expresión de AmpC plasmídicas junto con la disminución de la permeabilidad (19, 38). De forma similar, la producción de BLEE, en combinación con déficits en la permeabilidad de membrana, puede generar la aparición de resistencia a carbapenémicos en enterobacterias. Este mecanismo se ha descrito para casi todas las especies de enterobacterias incluyendo *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Salmonella* spp. y *Enterobacter* spp. (39).

## 4. Enterobacterias productoras de carbapenemasa

### 4.1 Epidemiología

La epidemiología de las infecciones ocasionadas por EPC es compleja y varía dependiendo de la especie bacteriana, clon y tipo de carbapenemasa. Las primeras carbapenemasas identificadas en enterobacterias fueron obtenidas en Reino Unido en dos cepas de *S. marcescens* que habían sido aisladas en 1982.

Estas enzimas eran del tipo serin-carbapenemasa y localización cromosómica (40). Sin embargo, las primeras carbapenemasas transferibles descritas en gramnegativos fueron de la clase MBL del tipo IMP en un aislado clínico de *P. aeruginosa* en Japón en 1991 y posteriormente, en este mismo país en *S. marcescens* (41).

#### 4.1.1 EPC tipo KPC

En 2001, se describió la primera EPC del tipo KPC en Carolina del Norte (42). Posteriormente, se ha diseminado a otros estados de Estados Unidos y a otros países como China, Brasil, Costa Rica, Argentina, Colombia y, fundamentalmente, a Israel, Rumanía, Grecia e Italia, siendo estos dos últimos los países europeos donde más se han aislado (61.9% y 33.5%), respectivamente (43-45). En España su aparición ha sido más tardía y no está vinculada al clon ST258 (46). Son de naturaleza plasmídica asociadas al trasposón Tn4401. Un reciente estudio realizado por el ECDC en mayo de 2015 demostró que la KPC era la carbapenemasa más ampliamente diseminada en Europa. En al menos 11 de los 38 hospitales participantes, la KPC fue la más

prevalente. La situación epidemiológica de la KPC en este estudio fue de "diseminación interregional" en cinco países (Bélgica, Israel, Rumanía, Eslovaquia y Reino Unido) y de "endemia", en dos (Italia y Grecia) (47).

Los brotes de *K.pneumoniae* KPC se han descrito en todo el mundo y son responsables de numerosas infecciones asociadas a la asistencia sanitaria (48), particularmente en determinadas áreas hospitalarias, como por ejemplo, en la UCI, donde ingresan grupos de población vulnerables (32, 33, 48).

#### **4.1.2 EPC tipo VIM**

Hasta el momento se han descrito 33 variantes de carbapenemasas de tipo IMP que se han diseminado desde Japón a Taiwán, el este de China y Grecia. Los genes *blaIMP* forman parte de integrones de clase 1 que contienen casetes de genes que codifican para varios mecanismos de resistencia no relacionados y que se expresan a partir de un mismo promotor. La variante de tipo VIM-2 es la más frecuente y la más extendida con una distribución endémica en el sur de Europa y el sudeste asiático (49). A principios de 2003, se detectó una diseminación de EPC tipo VIM en hospitales de Grecia (50) junto con algunos brotes en hospitales de Francia y España (51, 52). Desde 2008, se han descrito continuas entradas a Europa de EPC tipo NDM-1 desde India a Reino Unido, Austria, Bélgica, Francia, Alemania, Holanda, Noruega y Suecia (53, 54).

Descrita en 2008 en Suecia en un paciente procedente de Nueva Dehli (54), la carbapenemasa de tipo NDM ha sido centro de atención mediática debido a su rápida diseminación y su perfil de multirresistencia o

panresistencia. La mayoría de los pacientes infectados o colonizados por NDM-1 habían viajado o tenían relación con India, Pakistán o Bangladesh, por lo que estos países son considerados el principal reservorio de genes *bla*NDM-1. También se han descrito casos de pacientes relacionados con los estados de la península balcánica y países del medio este, considerándose estas áreas un reservorio secundario de NDM-1 (55). Los genes de *bla*NDM-1 no están asociados con un solo clon, especie o plásmido, se han descrito en una gran variedad de especies de BGN, siendo la mayoría especies de enterobacterias, que contienen plásmidos de diferentes tipos (56). La mayoría de las cepas productoras de NDM-1 expresan otros genes de resistencia no relacionados, como otros tipos de carbapenemasas (OXA-48, VIM), cefalosporinasas AmpC, BLEE, resistencias a aminoglucósidos, macrólidos, rifampicina y sulfametoxazol, siendo muchos de los aislados productores de NDM-1 sólo sensibles a tigeciclina, colistina o fosfomicina (57). Aunque la mayoría de las cepas productoras de NDM-1 son de origen nosocomial, siendo la especie más frecuente *K. pneumoniae*, también se han descrito en aislados de *E. coli* de origen comunitario (19).

#### **4.1.3 EPC tipo OXA-48**

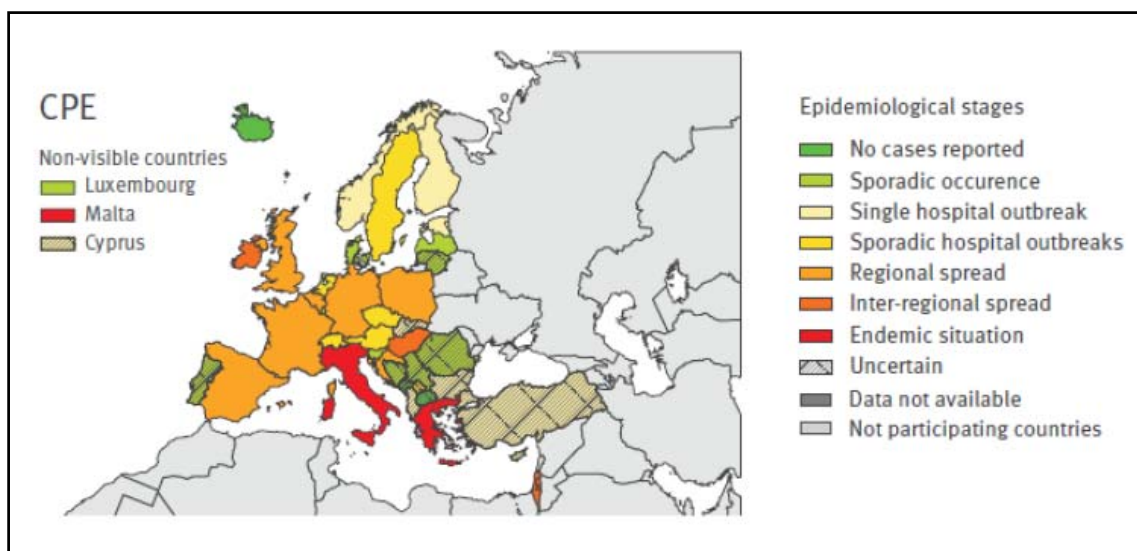
La primera enterobacteria productora de OXA-48 se identificó en una cepa de *K. pneumoniae* aislada en 2001 y procedente de Turquía (58). Desde entonces se han descrito brotes nosocomiales en Turquía, sur de Europa y África (29). Desde estas zonas, en los últimos años se ha registrado una rápida diseminación a los países europeos, muy probablemente relacionada con los

intercambios poblacionales con países de las citadas áreas. Los países europeos que más rápidamente se han visto afectados han sido Francia, España, Holanda, Alemania, Bélgica, Suiza y Reino Unido, convirtiéndose en algunos de ellos en el tipo de carbapenemasa predominante (59, 60).

La gran capacidad de diseminación de esta carbapenemasa puede deberse a que el gen *bla*OXA-48 que codifica la carbapenemasa OXA-48 está albergado en un plásmido conjugativo, llamado pOXA-48a y, más concretamente, dentro de un transposón llamado Tn1999. Este transposón se inserta en el gen *tir*, que codifica una proteína inhibidora de la conjugación bacteriana, lo que conduce a un incremento en la frecuencia de conjugación plasmídica y a la eficiente diseminación del gen *bla*OXA-48 (61).

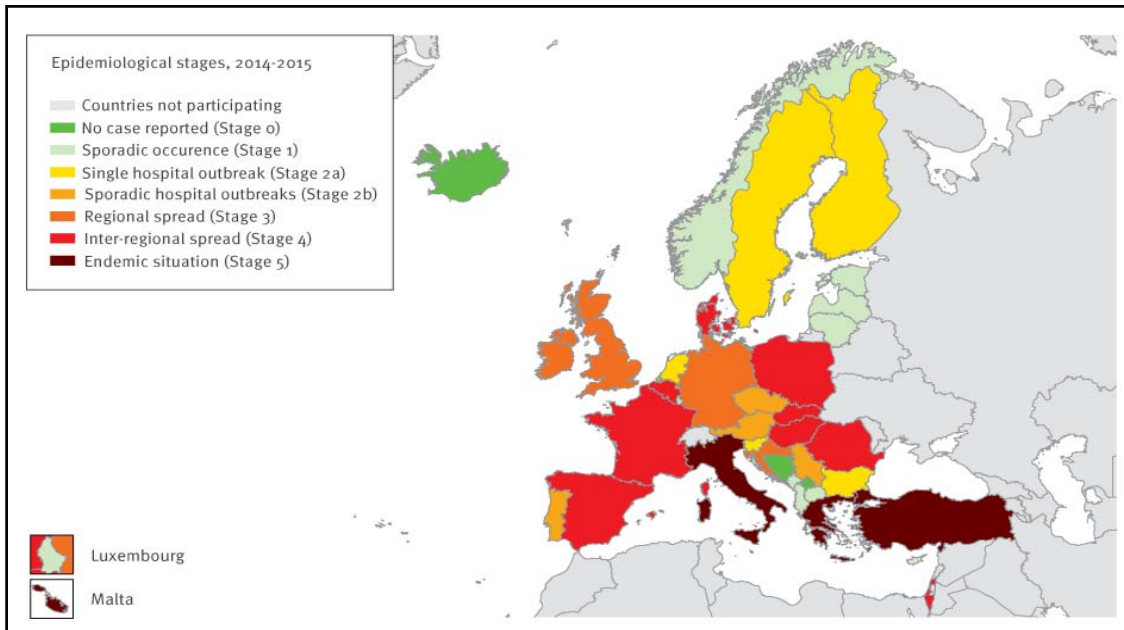
Un aspecto importante a destacar es que con frecuencia las EPC son también portadoras de otras resistencias, tanto a  $\beta$ -lactámicos, como a otros grupos de antibióticos, contribuyendo a la aparición de los fenómenos de multirresistencia, resistencia extrema o, incluso, panresistencia antibiótica (62). Ante este panorama de incremento paulatino de las resistencias a los antibióticos utilizados como último escalón terapéutico, en abril de 2012 el ECDC puso en marcha el proyecto EuSCAPE (*European Survey on carbapenemase-producing Enterobacteriaceae*) con el objetivo de obtener información sobre la epidemiología, incidencia y diseminación de EPC en 37 países de Europa e Israel. El informe se elaboró en 2013 y únicamente 3 países (Islandia, Montenegro y Macedonia) no informaron de casos de EPC; 21 países tuvieron un solo caso, casos esporádicos o brotes hospitalarios esporádicos, mientras que en 11 países informaron de diseminación a nivel regional, de

ellos, 3 (Grecia, Italia y Malta) tienen una situación endémica y en la mayoría de los hospitales tienen pacientes ingresados en los que se aíslan EPC (63) (Figura 1). En este informe, se recoge que España ha pasado de una situación epidemiológica de casos y brotes hospitalarios esporádicos en 2010, a una diseminación regional con casos relacionados epidemiológicamente entre distintos hospitales de un mismo área en 2013.



**Figura 1.** Prevalencia de las enterobacterias productoras de carbapenemasa en Europa en 2013 (44)

En nuestro país, a mediados de 2014, la situación epidemiológica era de “diseminación interregional”, lo que muestra una rápida evolución en comparación con las clasificaciones entre los años 2011 y 2013 de “brotes hospitalarios independientes” y de “diseminación regional”, respectivamente (44, 64). En la figura 2, se muestra la situación epidemiológica de las EPC en Europa y recogido en el informe EuSCAPE en 2015.



**Figura 2.** Distribución de las enterobacterias productoras de carbapenemasa en Europa. Informe EuSCAPE 2015 (22)

Los primeros casos de EPC en España fueron 2 cepas, una de *K. pneumoniae* y otra de *E. coli* productoras de VIM-1, aisladas en 2003 en Barcelona (65). Durante este periodo de tiempo, se limitaban a casos esporádicos o algún brote aislado de cepas con VIM o IMP. Sin embargo, durante los últimos 5-6 años la situación ha cambiado drásticamente con un aumento global de los casos detectados, principalmente en *K. pneumoniae* y *Enterobacter* spp., con un incremento del tipo de carbapenemasas y con un número mayor de hospitales afectados por grandes brotes a lo largo de la geografía española. Este cambio ha estado liderado fundamentalmente por la aparición y diseminación explosiva de la carbapenemasa OXA-48, cuyo primer caso no se detectó en España hasta abril de 2009. Actualmente, la situación epidemiológica de enterobacterias productoras de OXA-48 se puede considerar de "diseminación interregional", con la mayoría de las provincias afectadas en



mayor o menor nivel. Según el Programa de Vigilancia de la Resistencia a Antibióticos del Centro Nacional de Microbiología (PVRA-CNM), el 81% de las EPC detectadas en 2015 producían la OXA-48. La carbapenemasa VIM-1 es la segunda en frecuencia en España, representando el 12,5% de las carbapenemasas detectadas en 2015 por el PVRA-CNM. Desde su primera descripción en 2005, ha experimentado un progresivo, pero continuo aumento, generando, en algunos casos, importantes brotes hospitalarios.

La aparición de la NDM en España estuvo en un primer momento asociada a casos aislados importados de India o de países de su entorno. El primer caso de diseminación secundaria descrito en España se registró en Madrid debido a una *K. pneumoniae* productora de NDM-7. Aunque con una prevalencia muy inferior a OXA-48, los casos de enterobacterias productoras de NDM están aumentando en España, afectando en 2015 al 3,3% de las cepas estudiadas por el PVRA-CNM. Las carbapenemasas de tipo KPC han sido minoritarias hasta la fecha en España, aunque han generado algunos importantes brotes intra e interhospitalarios (22, 47, 66, 67).

Al igual que ocurre con otros mecanismos de resistencia enzimáticos como las BLEE plasmídicas de tipo AmpC, la expansión de las carbapenemasas en enterobacterias se puede generar por la diseminación clonal de determinados clones especialmente prevalentes o por la transmisión intra e interespecie de los elementos genéticos móviles que portan los genes que codifican dichas enzimas. En muchos de los grandes brotes nosocomiales por EPC, se ha observado una situación epidemiológica compleja caracterizada por la coexistencia de una expansión clonal y no clonal (35, 66).

## **4.2 Factores de riesgo asociados a colonización e infección**

Las EPC son fundamentalmente microorganismos nosocomiales que con frecuencia originan brotes hospitalarios, lo que determina su importancia epidemiológica, de ahí la importancia de su control.

La principal vía de transmisión es a través del contacto con las manos del personal sanitario. A igual que otras bacterias resistentes, esto da a entender que las estancias prolongadas en el hospital y/o someterse a procedimientos médicos invasivos son factores de riesgo para la adquisición de EPC. La colonización ocurre principalmente en el tracto digestivo, aunque otros lugares como la nasofaringe, el tracto respiratorio y el tracto urinario también han sido descritos (9). Una vez que el paciente está colonizado, puede ser portador durante largos periodos de tiempo (desde unas semanas hasta meses), constituyendo un importante reservorio (20, 68). Sin embargo, el reservorio humano no es el único, ya que también puede encontrarse transitoriamente en el ambiente inanimado que rodea a los pacientes infectados o colonizados.

Otro factor importante a tener en cuenta que favorece la colonización/infección por EPC es la antibioterapia recibida previamente. Con la presión de selección ejercida por el uso indiscriminado de los antibióticos, se pueden seleccionar estas bacterias multirresistentes. En la flora normal puede coexistir bacterias portadoras de algún gen de resistencia que al ser enfrentadas a un determinado antibiótico sobreviven. A su vez, si estas bacterias tienen un mecanismo de resistencia codificado en un elemento genético móvil, éste se puede transferir a otras especies de bacterias relacionadas. Por ejemplo, un paciente puede portar en su intestino una cepa

de *K. pneumoniae* productora de KPC, cuando este paciente recibe tratamiento con carbapenémicos, la flora intestinal sensible muere, pero sobrevive la cepa productora de KPC. A su vez, esta enzima puede transferirse a otras enterobacterias que puedan luego colonizar al paciente.

Se han identificado numerosos factores de riesgo de adquisición de EPC, algunos de ellos coinciden como factor de riesgo para estar colonizado e infectado. La identificación de estos factores de riesgo tiene mucha importancia, pero es compleja puesto que provienen de estudios con poblaciones y diseños muy diferentes, y, frecuentemente, con un tamaño muestral insuficiente.

En un estudio realizado en Italia por Tumbarello y cols. (69), identificaron factores que podrían predecir el aislamiento de *K. pneumoniae* KPC en muestras clínicas. Se distinguieron factores independientes para la colonización e infección, alguno de los cuales coincidían para ambos estadios clínicos, como haber tenido  $\geq 2$  ingresos en un hospital en el último año, llevar un catéter venoso central en el momento del aislamiento o durante el ingreso y haber recibido tratamiento antimicrobiano previo con quinolonas y/o carbapenémicos los 30 días previos al aislamiento. Además de los anteriormente citados, observaron que eran factores independientes para estar colonizado el ingreso previo en UCI en el año anterior, llevar sondaje vesical o haberse sido sometido a un drenaje quirúrgico en el momento del aislamiento o durante el ingreso, así como padecer un cáncer hematológico. Lo mismo se analizó para las infecciones por *K. pneumoniae* KPC, y los factores a añadir a los anteriores serían tener un índice de Charlson  $\geq 3$ , neutropenia en el

momento del aislamiento o durante el ingreso y haber sido sometido a una intervención quirúrgica en los 30 días previos al aislamiento o durante el ingreso. El modelo predictivo que desarrollaron para identificar el aislamiento de EPC, en este caso KPC, para tener una buena especificidad, el paciente tiene que cumplir  $\geq 3$  de los factores de riesgo mencionados anteriormente (69). Otros estudios han concluido otros factores para la adquisición de EPC, como la exposición previa a antibióticos, especialmente el uso de fluoroquinolonas, antecedentes personales de neoplasia, presencia de comorbilidades previas, procedimientos quirúrgicos no invasivos, prolongación de la estancia hospitalaria, estancia en la UCI y compartir habitación con un portador de EPC (11, 70). Asimismo, existe un solapamiento entre muchos de los factores implicados en la adquisición de la bacteria (colonización) y los implicados en el desarrollo de la infección.

La tasa de infección intrahospitalaria en pacientes colonizados varía de unos estudios a otros entre un 10-30% (71, 72). La mortalidad suele estar aumentada en las infecciones causadas por organismos multirresistentes. En el estudio de Patel y cols. (10), observaron que la infección por EPC era un factor independiente predictor de la mortalidad y que los pacientes tenían tres veces más riesgo de fallecer respecto a los que estaban infectados por la cepa no resistente. La mortalidad atribuible a infecciones por EPC se encuentra de manera global en torno a 17% y el 58% (73-75). Varios factores de riesgo se han asociado a la mortalidad, como son la edad avanzada, la gravedad de la enfermedad subyacente, presencia de cáncer, ventilación mecánica, trasplante de órgano sólido, shock séptico o sepsis severa, resistencia a los

carbapenémicos, terapia antibiótica inadecuada, duración corta de la terapia antibiótica correcta o la falta de erradicación de la bacteria a los siete días (10, 70, 74-76).

Debido a la dificultad para el tratamiento y la alta mortalidad que causan las infecciones por estas bacterias, se recomienda realizar el cribado de EPC para detectar cuanto antes los casos en pacientes colonizados e implementar las medidas adecuadas para limitar la transmisión.

### **4.3 Tratamiento**

Entre los microorganismos multirresistentes, las EPC son probablemente la amenaza más preocupante porque las opciones terapéuticas contra estas bacterias son escasas (60). La mayoría de las EPC son resistentes a todos los antibióticos de primera línea anti gramnegativos, tales como las cefalosporinas,  $\beta$ -lactámicos asociados a inhibidores, carbapenémicos y fluoroquinolonas. Fármacos alternativos, como colistina, tigeciclina, fosfomicina o aminoglucósidos, con frecuencia son las únicas opciones, lo que podría ayudar a explicar la mayor mortalidad de los pacientes con infecciones por EPC que aquellos con *Enterobacteriaceae* sensibles a carbapenémicos (77, 78). El tratamiento óptimo disponible contra las infecciones por EPC es incierto. Resultados de varios estudios retrospectivos (79-81) sugieren que la terapia combinada es mejor que la monoterapia. Estos estudios incluyeron solo infecciones por EPC tipo KPC. Aunque las KPC son las carbapenemasas más frecuentes en algunas partes del mundo, las carbapenemasas tipo OXA-48 o MBL predominan en otras áreas. Esta diferencia puede ser importante, ya que

su epidemiología, sensibilidad y grupos clonales bacterianos son diferentes (82, 83). Investigadores de otros estudios no encontraron que la combinación de la terapia combinada sea mejor que la monoterapia, subgrupos de pacientes podrían tratarse con monoterapia (84-86). En los brotes hospitalarios, la terapia empírica contra estas bacterias debe ser considerada para los pacientes con infecciones graves hasta obtener los resultados de microbiología. El tratamiento de estas infecciones debe ser individualizado y en el que se debe de valorar la sensibilidad de la bacteria a fármacos, el lugar de la infección y la gravedad del paciente. En las infecciones de orina no complicadas, a menudo pueden tratarse con éxito con un aminoglucósido (87) o fosfomicina, cuando los aislamientos son sensibles a uno de estos agentes (88, 89).

Para pacientes con infecciones más graves (incluyendo bacteriemia) causadas por EPC, se sugiere el uso de terapia antimicrobiana combinada con al menos dos fármacos sensibles. La combinación óptima es incierta, pero cuando la CMI a meropenem es  $CMI \leq 8$  mg/L, se ha demostrado que el uso a altas dosis con perfusión extendida de un carbapenem en combinación con otro fármaco puede mejorar la mortalidad en infecciones graves por EPC (73, 79, 80, 90-92). La monoterapia con un carbapenémico no se recomienda en infecciones graves, pero se podría considerar en infecciones leves o moderadas si el foco está controlado y la bacteria presenta  $CMI \leq 8$  mg/L a meropenem (90, 91). Otras combinaciones ensayadas han utilizado dos carbapenémicos. Sin embargo, la experiencia clínica es limitada, ya que son casos anecdóticos y, en general, esta pauta no se recomienda (93-95).

Colistina es uno de los fármacos principales en el tratamiento de infecciones causadas por EPC, pero debería preservarse para el tratamiento de infecciones cuando los  $\beta$ -lactámicos no pudieran utilizarse, porque se ha observado una falta de eficacia que está relacionada con dosis subóptimas de antibiótico secundario al esquema de dosificación tradicional de colistina (2 MU/8 horas). Es recomendable dosis altas de colistina (dosis de carga de 6 a 12 MU seguido de 4.5 MU cada 12 horas en pacientes con función renal normal) ya que se han asociado a buenos resultados en pacientes con infección grave (96, 97). Con dosis subóptimas, las concentraciones plasmáticas de colistina pueden permanecer bajo el punto de corte CMI (2 mg/L) durante 48 horas. En varios estudios sobre infecciones graves causadas por *K. pneumoniae* productora de carbapenemasa que fueron tratadas con polimixinas (79-81, 98), se observó que la dosis de colistina fue subóptima en la mayoría de estos estudios. En general, la mortalidad en pacientes tratados con colistina fue alta (21%-50%), aunque menor que con otros antimicrobianos utilizados en algunos estudios, y usualmente mayor cuando se usó colistina en monoterapia (23%-57%) que cuando se usó en combinación (12%-29%). Los resultados pueden mejorarse cuando se combina con un carbapenem, confirmando los datos in vitro (99). A pesar de estas limitaciones principales, se piensa que la colistina debe ser considerada como una opción importante para la terapia dirigida para infecciones causadas por EPC, para las cuales el uso de dosificación apropiada es importante.

La tigeciclina no suele verse afectada por las EPC, por lo que es activo frente a una gran proporción de este tipo de microorganismos (88), pero

desafortunadamente, la resistencia está aumentando y se ocasiona cuando se usa en monoterapia (100). La administración de tigeciclina alcanza bajas concentraciones en sangre, pulmones y orina, por lo que tiene menor curación y una mayor mortalidad, sería de segunda elección para estos tipos de infección (101, 102). Las dosis más altas de tigeciclina (hasta 200 mg de carga y 100 mg cada 12 horas) usadas para el tratamiento de las EPC están siendo estudiadas, debido a que las convencionales (dosis de carga de 100 mg seguida de 50 mg cada 12 horas), alcanzan bajas concentraciones (103). Altas dosis pueden considerarse para infecciones graves con opciones terapéuticas limitadas, particularmente en neumonías y bacteriemias (99).

Fosfomicina trometamina, una formulación oral, está aprobado en algunos países (incluido España) para el tratamiento de ITU no complicada; fosfomicina disodium también está disponible en algunos países para uso parenteral. El medicamento muestra poca toxicidad, logra altos niveles pico en suero y orina y penetra rápidamente en los tejidos. Cuenta con una experiencia más limitada, parece que tiene efectividad in vitro, aunque el fármaco es conocido por su facilidad para generar resistencias, sobre todo cuando se usa en monoterapia. Sin embargo, usado en terapia combinada, puede prevenir el desarrollo de resistencias (104-106). Debido a la escasez de información, fosfomicina no es primera opción en infecciones graves cuando otros fármacos son sensibles, pero puede ser necesaria en algunos pacientes con escasas opciones terapéuticas. En estos casos, las dosis de 16 a 24 gramos al día en combinación con otro antimicrobiano está recomendada (99).



Una proporción importante de EPC sigue siendo susceptible a los aminoglucósidos (60), aunque el tratamiento en monoterapia se ha considerado tan eficaz como otras opciones en el tratamiento de pacientes con ITU. En otro tipo de infecciones los aminoglucósidos se consideran inferiores a los  $\beta$ -lactámicos o fluoroquinolonas (107) y el efecto sinérgico potencial de los aminoglucósidos en combinación con otras drogas se ha estudiado in vitro contra EPC con ocasionales resultados contradictorios (104, 108, 109). Las dosis recomendadas para gentamicina y tobramicina son de 5-7 mg/Kg/día y para amikacina 15-20 mg/Kg/día. Estas altas dosis se requieren, sobre todo, en pacientes críticos, además se debe realizar la monitorización de niveles plasmáticos. Un ensayo aleatorizado sería necesario para comparar la eficacia y la seguridad de dosis más altas de aminoglucósidos (110). En resumen, y de acuerdo con los datos de otras poblaciones, la monoterapia con aminoglucósidos podría considerarse para el tratamiento de infecciones menos complicadas, tales como bacteriemias relacionadas con el catéter (si se retira el catéter) o ITU, de lo contrario, los aminoglucósidos deberían usarse en combinación (111).

Ceftazidime-avibactam es un agente activo frente a EPC de clase A que ha demostrado superioridad incluso a la combinación terapéutica en bacteriemias por EPC tipo KPC, sin embargo no tiene actividad frente a las MBL (112).

El tratamiento con aztreonam puede ser útil para los pacientes con infección por MBL (113), sin embargo, la experiencia clínica con aztreonam para el tratamiento de infecciones graves debidas a bacterias productoras de MBL es

muy limitada, ya que a menudo la bacteria aporta, además de la  $\beta$ -lactamasa de clase B, alguna otra capaz de hidrolizar al aztreonam (BLEE, AmpC...).

Desafortunadamente, la resistencia a estos agentes ha surgido, limitando aún más las opciones terapéuticas. La resistencia a la colistina es un problema creciente (114-116) y la diseminación de aislamientos que poseen el gen de resistencia a la colistina *mcr-1* limitará probablemente la utilidad de las polimixinas (117).

En resumen, se recomiendan esquemas terapéuticos que tengan un carbapenem junto con uno o dos fármacos activos (colistina, tigeciclina, aminoglucósido o fosfomicina) si la CMI del carbapenem es  $\leq 8$  mg/L. Cuando la CMI es mayor, no hay muchos datos acerca de la efectividad de los carbapenémicos, pero si ocurre, se recomienda no administrarlos y, en su lugar, usar al menos dos fármacos con actividad frente a la bacteria resistente según antibiograma (colistina, tigeciclina, aminoglucósido o fosfomicina), ya que se ha visto que el tratamiento combinado es el que obtiene menor mortalidad. Como se ha explicado recientemente, ceftazidima-avibactam ha demostrado superioridad incluso a la combinación terapéutica en bacteriemias por EPC tipo KPC (112).

Existe, por tanto, una necesidad urgente de nuevos antimicrobianos para el tratamiento de las EPC, pero todavía están en fase de desarrollo. Las combinaciones de  $\beta$ -lactámicos o monobactámicos con nuevos inhibidores de  $\beta$ -lactamasas (imipenem-cilastatina-relebactam, meropenem-vaborbactam, ceftarolina-avibactam, aztreonam-avibactam, nuevos  $\beta$ -lactámicos (S-649266,

BAL30072, cefiderocol), aminoglucósidos (plazomicina), quinolonas (finafloxacino) y tetraciclinas (eravaciclina) parecen prometedores (118-120).

## **OBJETIVOS**

Las EPC están ampliamente diseminadas por todo el mundo, pero la epidemiología local y las características clínicas varían. Debido al incremento de infecciones/colonizaciones por EPC que se iba produciendo en el HCSC, nos planteamos conocer la epidemiología, las características microbiológicas y clínicas de las EPC y de los pacientes en nuestro hospital ya que constituye un importante problema de salud. Además, para el control de estos microorganismos es necesario una rápida identificación de los mismos, un tratamiento adecuado y unas correctas medidas de aislamiento de los pacientes.

Los objetivos planteados en este estudio son:

1. Analizar las características microbiológicas, clínicas y epidemiológicas de los pacientes y de las muestras clínicas con aislamiento de enterobacterias productoras de carbapenemasa en el Hospital Clínico San Carlos durante el periodo de noviembre de 2013 a junio de 2015.
2. Caracterizar a nivel molecular los tipos de carbapenemasas producidos por cada especie.
3. Estudiar la sensibilidad de estos aislados a los carbapenémicos, así como a los antimicrobianos más útiles en el tratamiento de las infecciones por estos microorganismos.
4. Describir los diferentes esquemas terapéuticos prescritos y el desarrollo de resistencia intratratamiento.
5. Conocer las diferencias epidemiológicas y clínicas entre los pacientes colonizados e infectados por EPC en orina y desarrollar un modelo predictivo para facilitar el abordaje clínico y terapéutico.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se trata de un estudio de cohortes retrospectivo realizado en el hospital Clínico San Carlos (HCSC) en Madrid, España, entre noviembre de 2013 y junio de 2015, en el servicio de Microbiología Clínica. Se seleccionaron las enterobacterias procedentes de cualquier muestra clínica que presentaron en el antibiograma un fenotipo compatible con la producción de carbapenemasa. Se evaluaron las características microbiológicas y epidemiológicas, estudiando la frecuencia de los principales factores de riesgo, el comportamiento clínico y la evolución.

## **1. Definición y recogida de variables**

Los datos clínicos y epidemiológicos se obtuvieron cumpliendo un protocolo clínico y consultando las historias clínicas, datos demográficos (edad y sexo) y comorbilidades (índice de comorbilidad de Charlson). La gravedad en la comorbilidad se definió como un índice de Charlson  $\geq 3$ . También se recogieron los datos asociados a los factores de riesgo, áreas y servicios implicados y tipo de muestra clínica en la que se aisló el microorganismo. Los factores de riesgo recogidos para la adquisición de EPC fueron días previos de ingreso hasta el aislamiento de EPC en una muestra clínica, duración en días de estancia en hospital. Se estudió en los dos meses previos al aislamiento la administración previa de antibióticos (penicilinas, penicilinas + inhibidores, quinolonas, cefalosporinas y carbapenémicos), descontaminación digestiva selectiva, realización de procedimientos invasivos (sondaje vesical, ventilación mecánica, endoscopia digestiva y colocación de un catéter venoso central). También se



recogió la estancia en los dos meses previos en la UCI, el número de días de estancia en este servicio y si habían sido sometidos a cirugía abdominal. El catéter urinario permanente se definió como ser portador de sondaje vesical con una duración de más de 30 días, portar un catéter doble J o Pig-tail.

Con respecto a la terapia antimicrobiana recibida anteriormente, se registró el tipo de antimicrobiano recibido y si los pacientes habían tomado un curso de antibiótico más. El impacto ecológico derivado del uso de carbapenémicos se valoró con el estudio de aislamientos previos de *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos o *S. maltophilia* en los dos meses anteriores. También se estudió la presencia de enterobacterias productoras de BLEE en los seis meses previos. Se llevó a cabo un seguimiento consultando la historia clínica del paciente para valorar si el paciente estaba colonizado o infectado y, en este caso, el esquema terapéutico que había recibido para la infección de EPC y la mortalidad a los 30 y 90 días.

Para el estudio de factores independientes con el fin de distinguir entre colonización e infección de orina (ITU) en pacientes con aislamiento de EPC en orina, se incluyó a todos los sujetos ingresados con un primer aislamiento de EPC en esta muestra clínica. Fueron clasificados como infectados (ITU) o colonizados (bacteriuria asintomática). ITU se definió considerando la definición de CDC, combinación de un cultivo positivo en orina ( $>10^5$  UFC/ml) y  $\geq 1$  de los siguientes síntomas: síntomas urinarios, fiebre sin foco demostrable y/o sistémico de orina patológico (piuria, leucocitos y nitritos) (121). La variable dependiente consistió en la clasificación de los pacientes como colonizados o infectados (ITU).

## 2. Identificación de los microorganismos

La identificación bacteriana se realizó utilizando la técnica de espectrometría de masas mediante el sistema MALDI-TOF MS (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry*). Para ello se aplicaron directamente las colonias en la tarjeta (Bruker Daltonik, Bremen, Alemania), dejándolas secar a temperatura ambiente para posteriormente añadir 1 µl de matriz de ácido- $\alpha$ -ciano-4-hidroxi-cinámico. Una vez seca la matriz, se procedió a la lectura en el espectrómetro, el cual tiene asociado un programa informático (Flex Control) para la obtención y lectura del espectro y un programa específico de identificación (MALDI-Biotyper 2.0) que contiene la base de datos suministrada por el fabricante. Los estudios de sensibilidad de las cepas se llevaron a cabo en el laboratorio del servicio de Microbiología Clínica del HCSC mediante los sistemas automáticos Vitek 2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia) para el procesamiento de los aislados procedentes de hemocultivos, exudados y líquidos corporales y Wider (Francisco Soria Melguizo, Madrid, España) para el resto de aislados procedentes de muestras clínicas. El equipo Vitek 2 es un sistema que utiliza la técnica de microdilución y monitoriza la cinética de crecimiento bacteriano cada 15 minutos mediante análisis turbidimétrico. Permite la obtención de resultados entre 4-10 horas en bacterias de crecimiento rápido. Para la determinación de la sensibilidad con el sistema Vitek 2, se utilizaron las tarjetas AST-N243 que se inocularon de acuerdo con las instrucciones del fabricante, con una concentración final de  $8 \times 10^6$  UFC/ml preparada a partir de una suspensión 0,5 McFarland. El sistema Wider es un analizador automático de imágenes que utiliza la técnica de microdilución en

placa. Los paneles se inocularon según las instrucciones del fabricante para obtener una concentración final aproximada de  $5 \times 10^5$  UFC/ml. Posteriormente se incubaron entre 16-20 horas a 35°C en un incubador sin CO<sub>2</sub> para finalmente proceder a la lectura. Los antibióticos carbapenémicos y las concentraciones que incluyeron cada sistema fueron diferentes (Tabla 3).

**Tabla 3.** Concentraciones de los antibióticos carbapenémicos incluidos en los paneles de cada sistema de detección

Carbapenémicos	Wider Gram Negative Panel (mg/L)	Vitek AST-N243 (mg/L)
<b>Imipenem</b>	1, 2, 4, 8	1, 2, 4, 16
<b>Meropenem</b>	2, 4, 8	-
<b>Ertapenem</b>	2, 4	0.5, 1, 6

Se valoró la producción de carbapenemasa en las enterobacterias objeto de nuestro estudio que cumplieron los siguientes criterios:

- CMI > 1 mg/L para imipenem con cualquier valor de CMI para meropenem o ertapenem.
- CMI > 2 mg/L para meropenem con cualquier valor de CMI para ertapenem o imipenem.
- CMI > 2 mg/L (Wider) o > 0,5 mg/L (Vitek) para ertapenem con cualquier valor de CMI para imipenem o meropenem.

Los resultados obtenidos de los sistemas automáticos se interpretaron en función de la CMI, con independencia de la interpretación de los sistemas expertos.

Se determinó la CMI exacta a los carbapenémicos (ertapenem, imipenem y meropenem) mediante la técnica de difusión en gradiente utilizando el épsilon test (Etest, bioMérieux), al igual que las resistencias a fosfomicina y colistina. Las tiras E-test son un método cuantitativo de difusión en agar. Consisten en unas tiras de plástico que incorporan un gradiente de concentración de antimicrobiano. Cuando se depositan sobre las placas de agar inoculadas, el antimicrobiano difunde en el medio. Se preparó una suspensión bacteriana con cada cepa en suero salino con una turbidez 0,5 McFarland y se inoculó en una placa de agar Mueller-Hinton (MH). Se incubó a 37°C durante 24 horas. Se determinó la CMI en el punto de intersección del halo de inhibición del crecimiento con la tira.

Se valoró la producción de carbapenemasa a los aislados clínicos con CMI > 1 mg/L a imipenem o meropenem o CMI > 0,5 mg/L para ertapenem. Los aislados fueron categorizados como sensibles, resistentes o con sensibilidad intermedia de acuerdo con los criterios del CLSI 2011 (122, 123), a excepción de fosfomicina y colistina, que se evaluó según los criterios del EUCAST 2013 (124) para enterobacterias (Tabla 4). La sensibilidad o resistencia de tigeciclina se evaluó según los criterios de la FDA (*Food and Drug Administration*) (125).

**Tabla 4.** Puntos de corte de los antimicrobianos estudiados

ANTIMICROBIANOS	Concentraciones de antimicrobianos (mg/L)					
	CLSI			EUCAST		
	S	I	R	S	I	R
<b>Imipenem</b>	≤1	2	≥4	≤ 2	4-8	>8
<b>Meropenem</b>	≤1	2	≥4	≤ 2	4-8	>8
<b>Ertapenem</b>	≤0.25	0.5	≥1	≤ 0.5	1	>1
<b>Ciprofloxacino</b>	≤1	2	≥4	-	-	-
<b>Amikacina</b>	≤16	32	≥64	-	-	-
<b>Fosfomicina</b>	≤64	128	≥256	≤32	-	>32
<b>Colistina</b>	-	-	-	≤2	-	>2

### 3. Detección fenotípica de carbapenemasas

#### 3.1. Test de Hodge modificado

Una vez valorado el antibiograma con un fenotipo compatible con la presencia de una carbapenemasa, se realizó el test de Hodge modificado (THM) propuesto por *Lee et al.* en la que se usó una cepa control de *E. coli* ATCC 25922 sensible a los carbapenémicos. Para el desarrollo de esta prueba se preparó una suspensión bacteriana con la cepa control en suero salino (NaCl 0.9%) ajustada al patrón 0.5 de la escala de turbidez de McFarland, se diluyó un 1/10 y se inoculó en una placa de agar MH. A continuación, se colocó un disco de imipenem (10 µg) en el centro y se trazaron estrías con un asa de siembra desde el centro hacia los extremos de la placa tanto con la cepa control como con las cepas a estudio. Se incubó a 37 °C durante 24 horas. Se consideró positivo, es decir, presencia de carbapenemasa, cuando el halo del

*E. coli* control ATCC se distorsionó debajo de las estrías realizadas con las cepas a estudio. Una vez que el THM fue positivo, se evaluó la clase molecular a la que pertenecían dichas enzimas utilizando discos de ertapenem, meropenem e imipenem. En los aislados clínicos se descartó la producción de carbapenemasas de clase A y B mediante la prueba de doble difusión con discos de meropenem, ácido borónico y EDTA, respectivamente.

### **3.2. Test de sinergia con EDTA**

Esta prueba se utilizó para la detección fenotípica de carbapenemasas de clase B, es decir, de las MBL. Cada cepa seleccionada se inoculó en una placa de agar MH con una dilución en suero salino hasta conseguir una turbidez de 0,5 McFarland. A continuación, se colocaron 2 discos de imipenem. Se añadieron 10 µl de EDTA 0,1M a uno de los discos de imipenem. Se incubó a 37°C durante 24 horas. Se consideró positivo, es decir, presencia de MBL, cuando el halo del disco de imipenem/EDTA fue al menos 5 mm mayor que el halo del disco de imipenem.

### **3.3. Test de sinergia con PBA**

Esta prueba se utilizó para la detección fenotípica de carbapenemasas de la clase A. Cada cepa seleccionada se inoculó en una placa de agar MH con una dilución en suero salino hasta conseguir una turbidez de 0,5 McFarland. A continuación, se colocaron dos discos de meropenem y se añadieron 10 µl de PBA 40 µg/µL a uno de los discos. Se incubó a 37°C durante 24 horas. Se consideró positivo, es decir, presencia de carbapenemasa de la clase A cuando el halo del disco de meropenem/PBA fue al menos 5 mm mayor que el halo del

disco de meropenem. No existen inhibidores específicos de enzimas de la clase D. Se consideró que una carbapenemasa era probablemente de la clase D cuando el THM fue positivo y los test de combinación en disco fueron negativos.

## **4. Métodos moleculares**

### **4.1. Extracción del ADN**

La extracción del ADN se llevó a la práctica mediante el método de lisis con el *buffer* Tritón (100 mM NaCl, 10 mM Tris HCl pH 8,3, 1 mM EDTA, 1% Tritón X100). Se recogieron con un asa de siembra una o dos colonias de cada aislado procedentes de un cultivo puro de 18-24 horas y se resuspendieron en 200 µl de este buffer. Los tubos se calentaron a 100 °C durante 10 minutos y después, se centrifugaron durante 10 minutos a 14.000 rpm. Los resuspendidos se conservaron a -20 °C hasta su uso.

### **4.2. Amplificación de los genes que codifican para carbapenemasas**

La amplificación de los genes se efectuó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las cepas fueron analizadas para los genes *blaVIM*, *blaKPC*, y *blaOXA* por ser los tipos de carbapenemasas más frecuentes en España. Los cebadores utilizados se muestran en la tabla 5.

**Tabla 5.** Secuencia de los iniciadores y condiciones utilizadas para la amplificación (42, 126)

GENES	CEBADORES	SECUENCIACIÓN DE LOS CEBADORES	Tª DE HIBRIDACIÓN	TAMAÑO FRAGMENTO
<b>VIM</b>	VIM A VIM B	5' ATG GTG TTT GGT CGC ATA TC 3' 5' TGG GCC ATT CAG CCA CAT C 3'	52 °C	510 pb
<b>KPC</b>	KPC F KPC R	5' ATG TCA CTG TAT GGC CGT CT 3' 5' TTT TCA GAG CCT TAC TGC CC 3'	58 °C	893 pb
<b>OXA</b>	OXA F OXA R	5' GCT TGA TGG CCC TCG ATT 3' 5' AAA CCA TCC GAT GTG GGG CAT 3'	57 °C	511 pb

La amplificación se llevó a cabo en el termociclador Gene Amp® PCR System 9700 (Applied Biosystems) y las condiciones de amplificación fueron las siguientes:

***bla*VIM**

Desnaturalización inicial	Amplificación	Elongación final
94°C 5'	94°C 25" 52°C 40" 72°C 50"	72°C 6'
	30 ciclos	

***bla*KPC**

Desnaturalización inicial	Amplificación	Elongación final
94°C 5'	94°C 25" 58°C 40" 72°C 50"	72°C 6'
	30 ciclos	

***bla*OXA-48**

Desnaturalización inicial	Amplificación	Elongación final
94°C 1'	94°C 30" 57°C 30" 72°C 1'	72°C 2'
	30 ciclos	



### **4.3. Detección de los amplificados por electroforesis en geles de agarosa**

Los productos obtenidos tras la amplificación se visualizaron mediante electroforesis, utilizando geles de agarosa al 1.5% en tampón T.A.E. (Tris Acetato 0,4M pH 8,3 y EDTA 0,01M, Sigma-Aldrich Co) 1X con bromuro de etidio. Para la visualización de los productos amplificados se empleó un transiluminador de luz ultravioleta. Se usó un marcador de peso molecular con rango de 100-1000 pb (Bio-Rab Laboratorios) para la estimación del tamaño de las bandas obtenidas.

### **4.4. Caracterización molecular. rep-PCR (repetitive extragenic palindrom-PCR) automatizada**

Para el estudio del desarrollo de resistencia intratratamiento se analizaron las cepas iniciales y las reaisladas posteriormente en cuatro pacientes. Para ello se hizo un análisis molecular mediante rep-PCR y se utilizó el sistema automatizado Diversilab™ (bioMérieux). El ADN purificado se amplificó usando los reactivos que proporciona el DiversiLab DNA Fingerprinting kit bacterial junto con el enzima AmpliTaq DNA Polimerasa y el buffer GeneAmp 10X PCR buffer (Applied Biosystems, Foster City, California, EEUU) en las siguientes proporciones (Tabla 6).

**Tabla 6.** Mezcla de reacción utilizada en la reacción de amplificación para la caracterización genotípica mediante rep-PCR automatizada (Diversilab™)

REACTIVOS	μL/TUBO
Rep-PCR MM1	18
Tampón 10X PCR GeneAmp™	2.5
Primer MIX U	2
ADN Polimerasa AmpliTaq™*	0.5

Se añadieron 2 μl del ADN purificado a cada tubo de reacción y la amplificación se realizó en un termociclador MyGene™ MG96+ con el siguiente programa:

Desnaturalización inicial	Amplificación	Elongación final
94°C 2'	94°C 30" 60°C 30" 70°C 90"	70°C 7'
	35 ciclos	

El ADN amplificado se separó mediante electroforesis en gel de agarosa en una matriz de microfluidos (DiversiLab™ LabChip, bioMérieux), usando un analizador Agilent 2100 para la electroforesis (Agilent Technologies). A cada muestra problema se le añadieron marcadores de peso molecular para valorar tanto la cantidad como la calidad del ADN y la migración en el gel de electroforesis. Para el análisis se recurrió al software de Diversilab versión 3.4.40, las matrices de distancia se calcularon mediante el coeficiente de correlación de Pearson y los dendrogramas se construyeron en base al algoritmo de la media aritmética no ponderada o UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages).

## 5. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de todas las variables registradas entre los paciente colonizados e infectados, se llevó a cabo, en primer lugar, análisis univariante. A la hora de comparar aquellas variables con distribución normal, se empleó el test de la t de Student, mientras que para las variables que no seguían una distribución normal, se usó el test de la U de Mann-Whitney. La comparación entre variables cualitativas se llevó a cabo mediante la aproximación exacta de Fisher o el test de Chi-cuadrado. En cada caso, la Odds ratio (OR) y el intervalo de confianza (IC) al 95% fueron calculados.

El análisis multivariante se realizó mediante un modelo de regresión logística (por pasos hacia atrás) en el que se consideró la infección como la variable dependiente y en el que se incluyeron todas aquellas variables independientes en las que se obtuvo un nivel de asociación con una  $p \leq 0.20$  en el análisis univariante. Para identificar las variables asociadas independientemente con la infección, se consideró una  $p \leq 0.05$ . El poder del modelo de regresión logística para discriminar entre pacientes infectados y colonizados se expresó como el área bajo la curva (AUROC). Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS<sup>®</sup> 20 (IBM<sup>®</sup>, Chicago, EEUU).

## **RESULTADOS**

1. Características clínicas y epidemiológicas
2. Aislados bacterianos
3. Distribución temporal de los diferentes genotipos
4. Características de sensibilidad a los antimicrobianos
  - 4.1 Antimicrobianos carbapenémicos
  - 4.2 Antimicrobianos no  $\beta$ -lactámicos
5. Antimicrobianos pautados
6. Desarrollo de resistencia intratratamiento
7. Factores de utilidad clínica para discriminar entre colonización e infección urinaria en pacientes con aislamiento urinario de EPC

## 1. Características clínicas y epidemiológicas

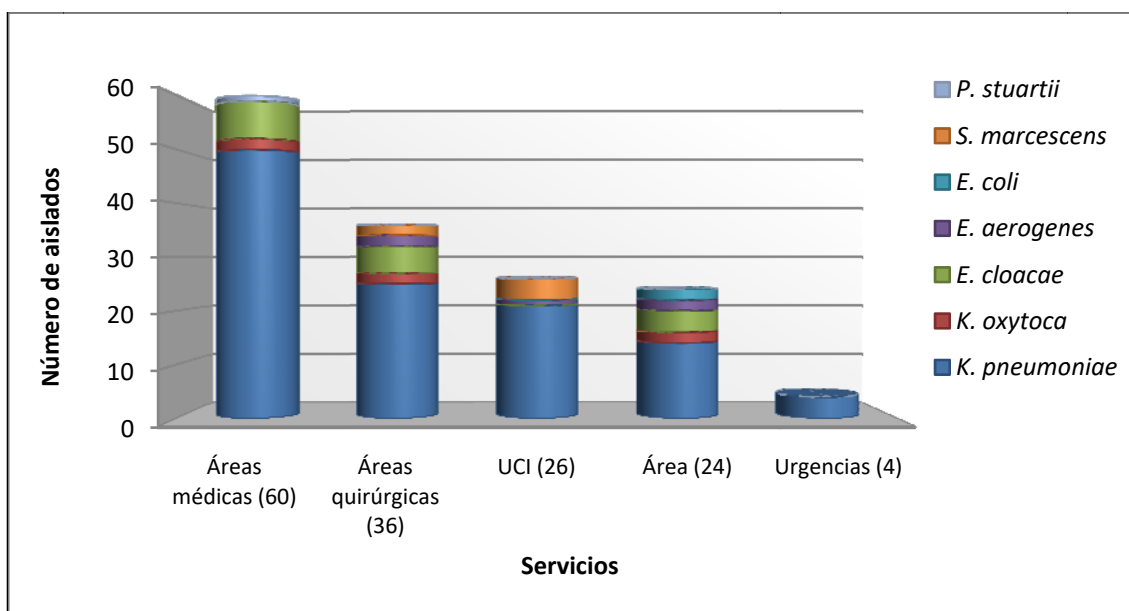
Entre noviembre de 2013 y junio de 2015, un total de 150 pacientes con aislamiento de EPC en una muestra clínica fueron identificados, 81 (54%) fueron hombres y 69 (46%) mujeres. El rango de edad osciló entre 23 y 99 años, con una media de edad de 74.2 años.

De estos 150 pacientes, 126 (84%) estaban ingresados y 24 (16%) eran de área. De los 126 pacientes que estaban hospitalizados, 44 (35%) estaban colonizados y 67 (53%) tenían infección por EPC. De los 126 pacientes ingresados, se desconoce el estado de 15 pacientes si estaban colonizados o tenían infección, ya que en el momento de la detección de la EPC en cualquier muestra clínica, el paciente había sido dado de alta o había fallecido. La estancia media en el hospital fue de 39.2 días (IQR: 9-60) y el tiempo medio desde el ingreso hasta el primer aislamiento, de 22.8 días (IQR: 5-34).

En cuanto a la evolución del proceso, el 44% de los pacientes (55/126) fallecieron, 31 (56%) a los 30 días y 24 (43%) a los 90 días del aislamiento. La mortalidad en el subgrupo de infectados fue del 64% y del 27% en los pacientes colonizados. La mortalidad fue mayor en los pacientes ingresados en áreas médicas, 48.3% (OR: 1.871; IC 95%: 0.911-3.844) que en las áreas quirúrgicas, 16.6% (OR: 0.2; IC 95%: 0.076-0.527).

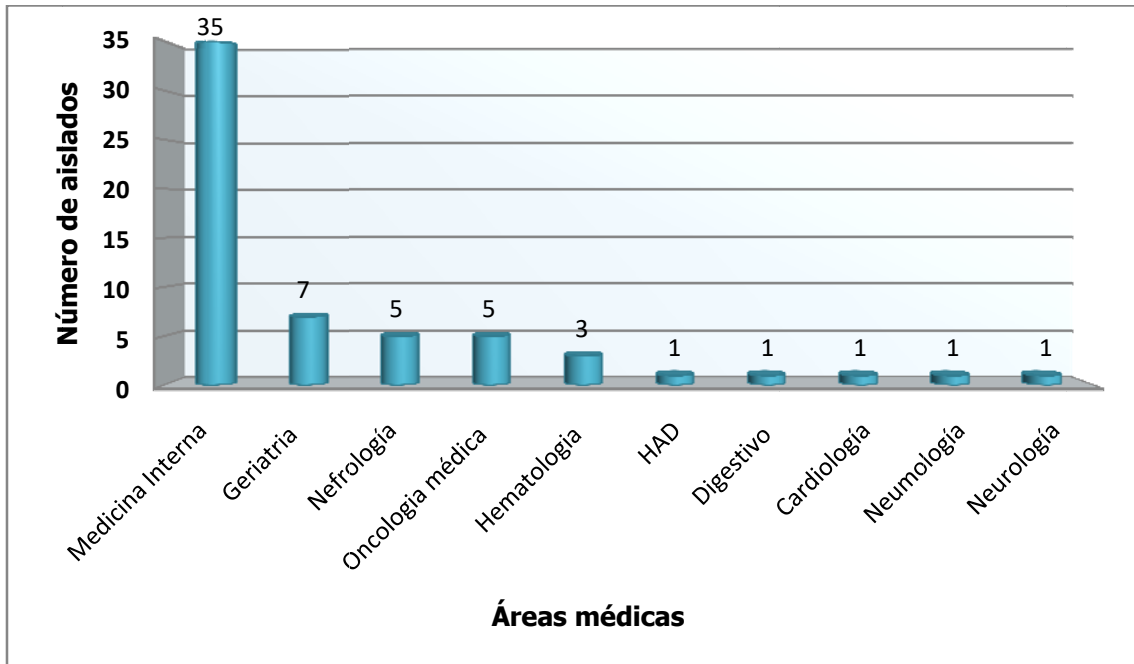
Los servicios en los que se detectaron las EPC se representan en la figura 3. En 24 casos (16%), el primer episodio de aislamiento de EPC correspondió a pacientes no hospitalizados y cuyas muestras clínicas mayoritariamente procedían de atención primaria (20/24; 83%) y el resto de consultas de

atención especializada y de residencias. Cuatro eran pacientes ingresados en urgencias.

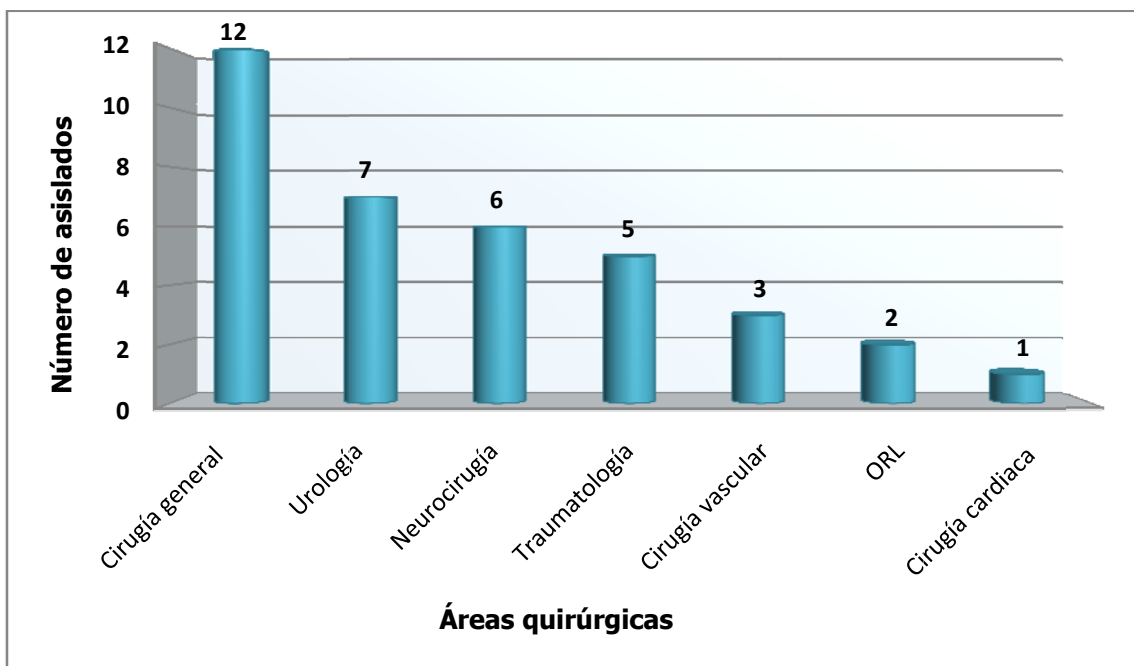


**Figura 3.** Distribución de las enterobacterias productoras de carbapenemasa según los servicios en las que fueron aisladas

En las áreas médicas fueron donde se encontraron más casos de pacientes con EPC, 60 pacientes en total (40%). En concreto, medicina interna fue donde se registraron más pacientes (35/60; 58%), y solo un 5% provenían de hematología (Figura 4). En segundo lugar, las áreas quirúrgicas, con 36 pacientes (24%), de los cuales 12 pacientes con el primer aislamiento de EPC se detectaron en el servicio de cirugía general y 7 en el de urología (Figura 5). El servicio de la UCI (26/150; 17.3%), fue el tercero en frecuencia.



**Figura 4.** Distribución de las carbapenemas por áreas médicas

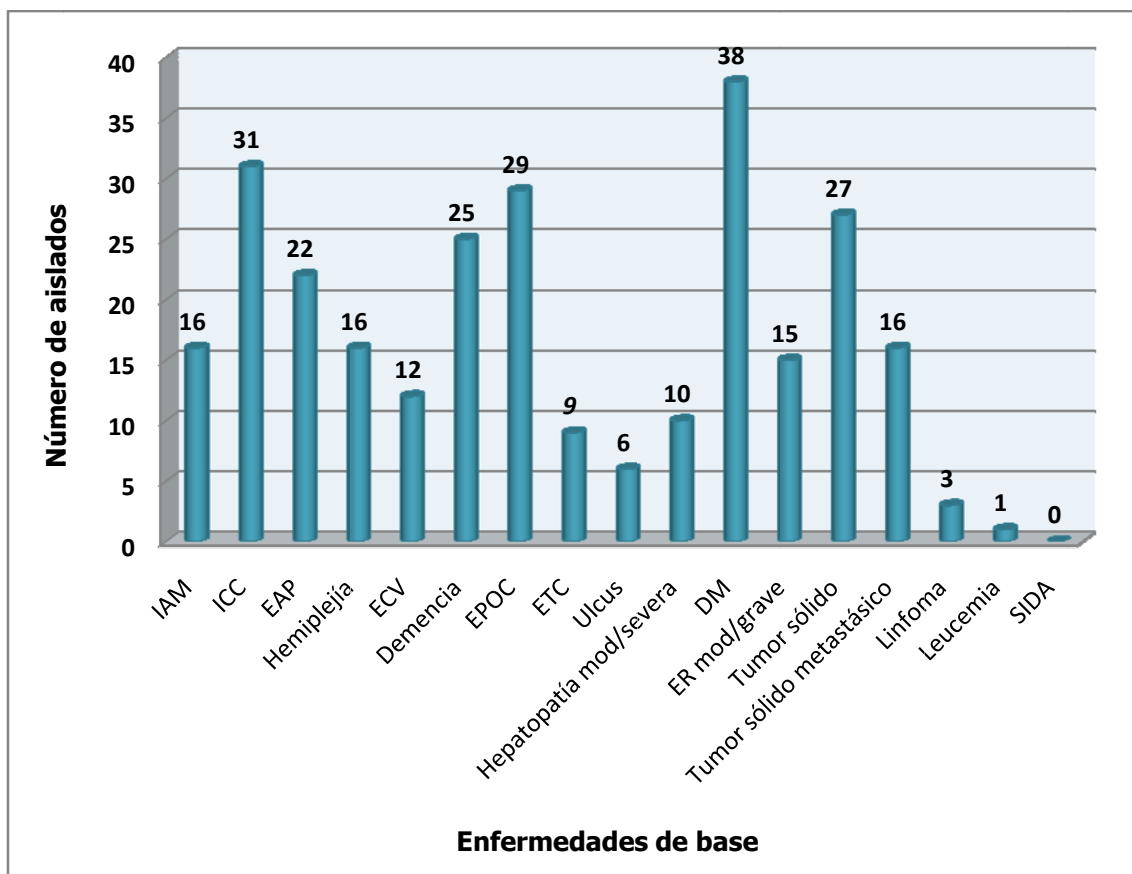


**Figura 5.** Distribución de las carbapenemas por áreas quirúrgicas



Se calculó el índice de Charlson en los pacientes que estaban ingresados y 67 pacientes (53%) tenían un índice de Charlson  $\geq 3$  en el momento del ingreso. Este índice aumentaba a 88 pacientes (70%) en el momento del aislamiento.

La comorbilidad de los pacientes con EPC se presenta en la figura 6, donde se describe la frecuencia de la enfermedad de base y se muestra como predominaban pacientes con un tumor sólido con y sin metástasis (43/126; 34%), pacientes con diabetes mellitus (38/126; 30%) y con insuficiencia cardiaca (31/126; 23%).



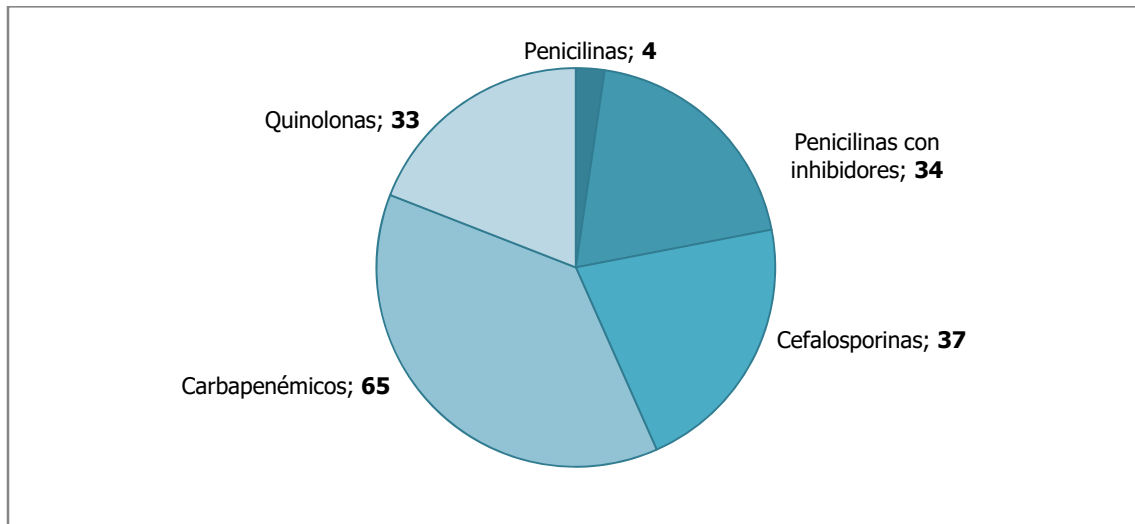
**Figura 6.** Enfermedades de base en los pacientes con aislamiento de EPC

DM: Diabetes mellitus. IAM: Infarto agudo de miocardio. ICC: Insuficiencia cardiaca congestiva. ECV: Enfermedad cerebrovascular. ETC: Enfermedad del tejido conectivo. EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica. ER: Enfermedad renal. SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

En cuanto al estudio de los pacientes ingresados a los que se les había realizado procedimientos invasivos en los dos meses previos al primer aislamiento, los resultados mostraron que la mayoría (93/126; 74%) llevaban sonda vesical y 16 (10.7%) eran portadores de sonda vesical permanente; 61 pacientes (57.5%) tenían un catéter venoso central, 45 fueron sometidos (42.4%) a ventilación mecánica; a 44 pacientes (41.5%) se les realizó descontaminación selectiva digestiva y 55 pacientes (36.7%) habían tenido un ingreso previo en el servicio de la UCI en los dos meses previos al aislamiento de EPC con una media de estancia de 9.6 días (IQR: 0-5). Treinta y cinco pacientes (27.7%) habían sido sometidos a una endoscopia digestiva y 24 (22.6%) habían sufrido un procedimiento quirúrgico, en concreto, cirugía abdominal. Por último, a 9 pacientes (8.4%) se les había practicado algún procedimiento urológico (colocación de catéter Doble Jota, Pig tail o realización de cirugía urológica).

Continuando con el examen de los factores predisponentes para la adquisición de una EPC, los resultados muestran que en este estudio la gran mayoría de los pacientes (101/150; 67.3%) habían recibido tratamiento antibiótico en los dos meses previos al primer aislamiento de EPC en alguna muestra clínica con algunos de los siguientes antimicrobianos (penicilinas, penicilinas asociado a inhibidores, cefalosporinas, carbapenémicos y/o quinolonas). Un 64.3% había recibido carbapenémicos los dos meses antes al aislamiento previo. La distribución del tipo de antimicrobianos administrados los dos meses previos al primer aislamiento se muestran en la figura 7. Aclarar que

en 22 pacientes (14%) se desconoce el dato de si recibieron antibioterapia previa.



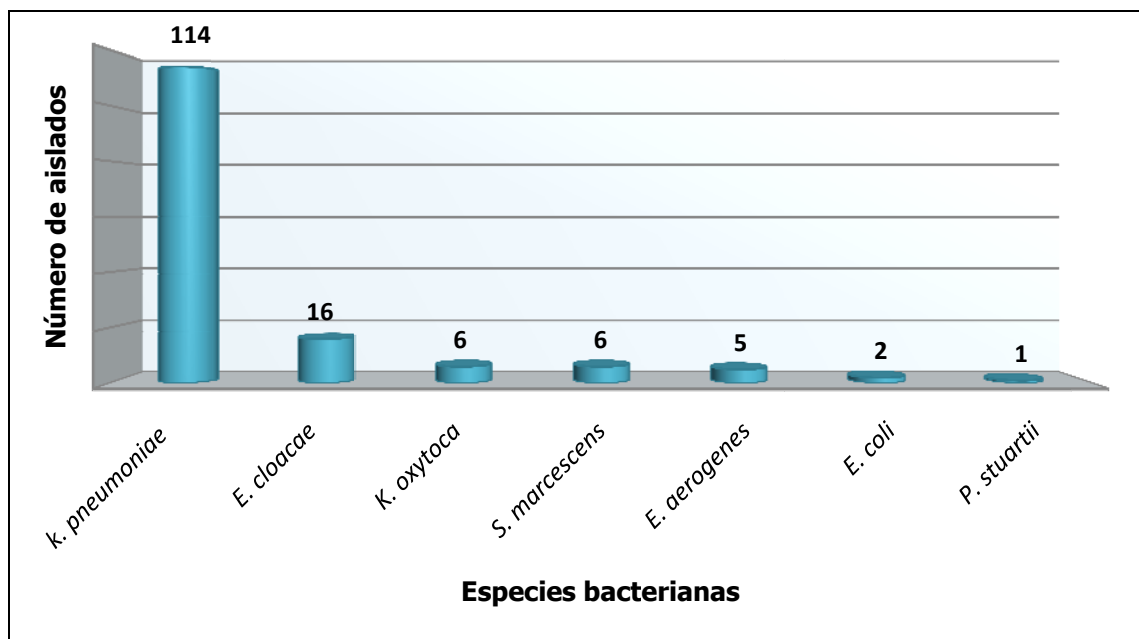
**Figura 7.** Distribución de la antibioterapia recibida en los 2 meses previos

En cuanto al número de ciclos de antimicrobianos recibidos previamente, la mayoría de los pacientes (48/101; 47.5%) recibieron un ciclo de antibióticos; 32 pacientes (31.6%) dos ciclos, 19 pacientes (19%) tres ciclos y solo dos pacientes (2%) recibieron cuatro ciclos de antibióticos.

A continuación, se describen los resultados de cepas resistentes que habían tenido los pacientes antes del primer aislamiento de EPC y un 26% (39/150) pacientes habían tenido un aislamiento de cepas productoras de BLEE los seis meses previos en alguna muestra clínica, en 21 pacientes (14%) se identificó *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos y en 11 pacientes (7.3%) *S. maltophilia* en los dos meses anteriores.

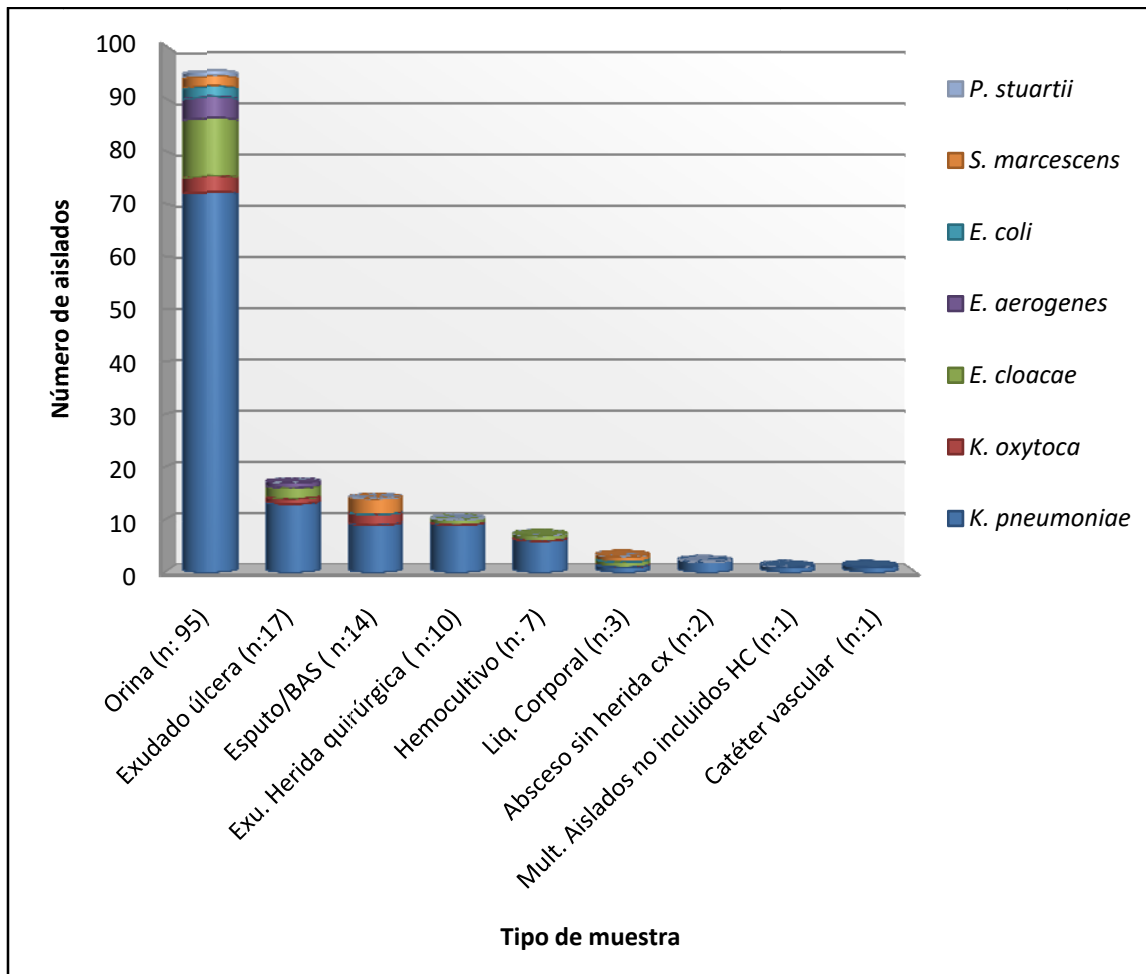
## 2. Aislados bacterianos

Se identificaron siete especies bacterianas, predominando *K. pneumoniae* 114 (76%), seguido de 16 (10.7%) *E. cloacae*. Las frecuencias de las distintas especies de enterobacterias en muestras clínicas están representadas en la figura 8.



**Figura 8.** Distribución de especies bacterianas productoras de carbapenemasas

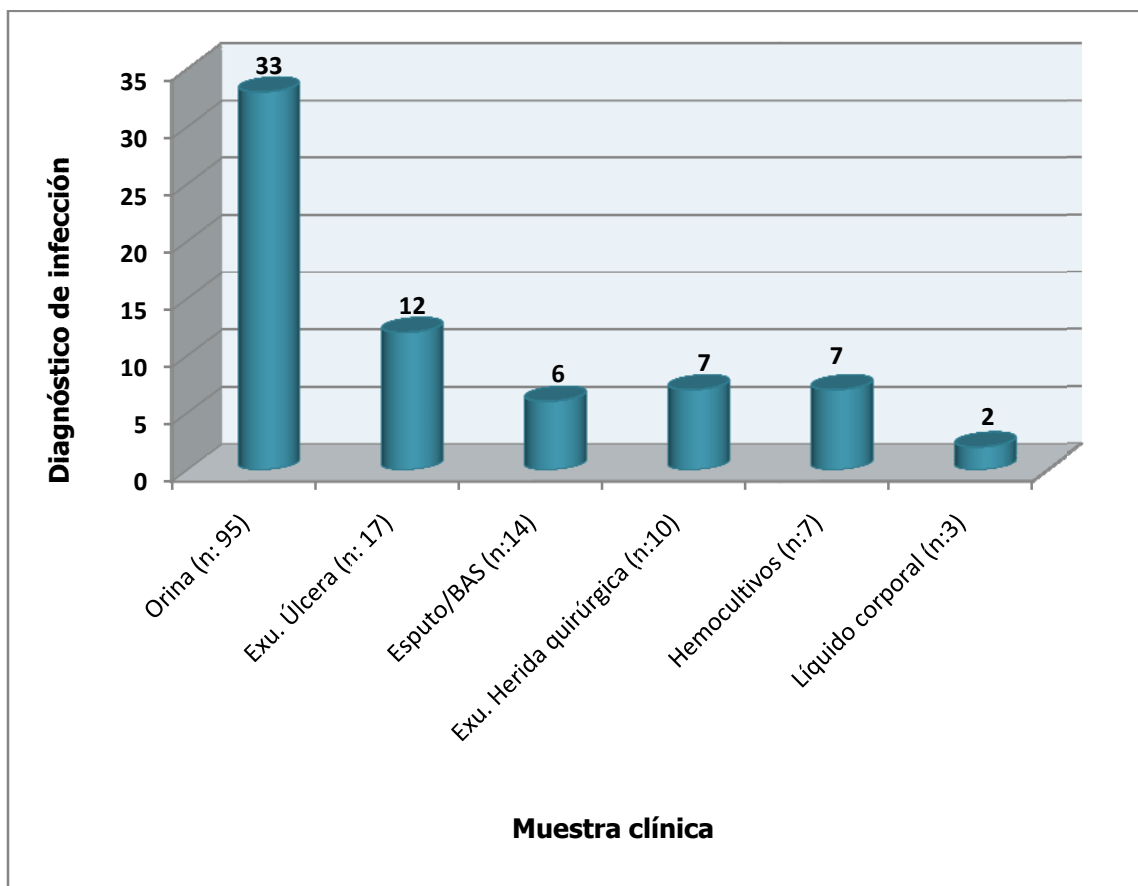
Los tipos de muestras en los que se aislaron estas cepas se representan en la figura 9. La muestra mayoritaria fue la orina (63.3%), seguida de los exudados de úlceras (11%) y las muestras respiratorias (9.3%). Predominó el aislamiento de *K. pneumoniae* en orina, siendo también la especie más frecuente en el resto de muestras clínicas. Cabe destacar que el 50 % de las cepas de *S. marcescens* se aislaron en muestras respiratorias.



**Figura 9.** Distribución de las especies bacterianas según el tipo de muestra en las que fueron aisladas

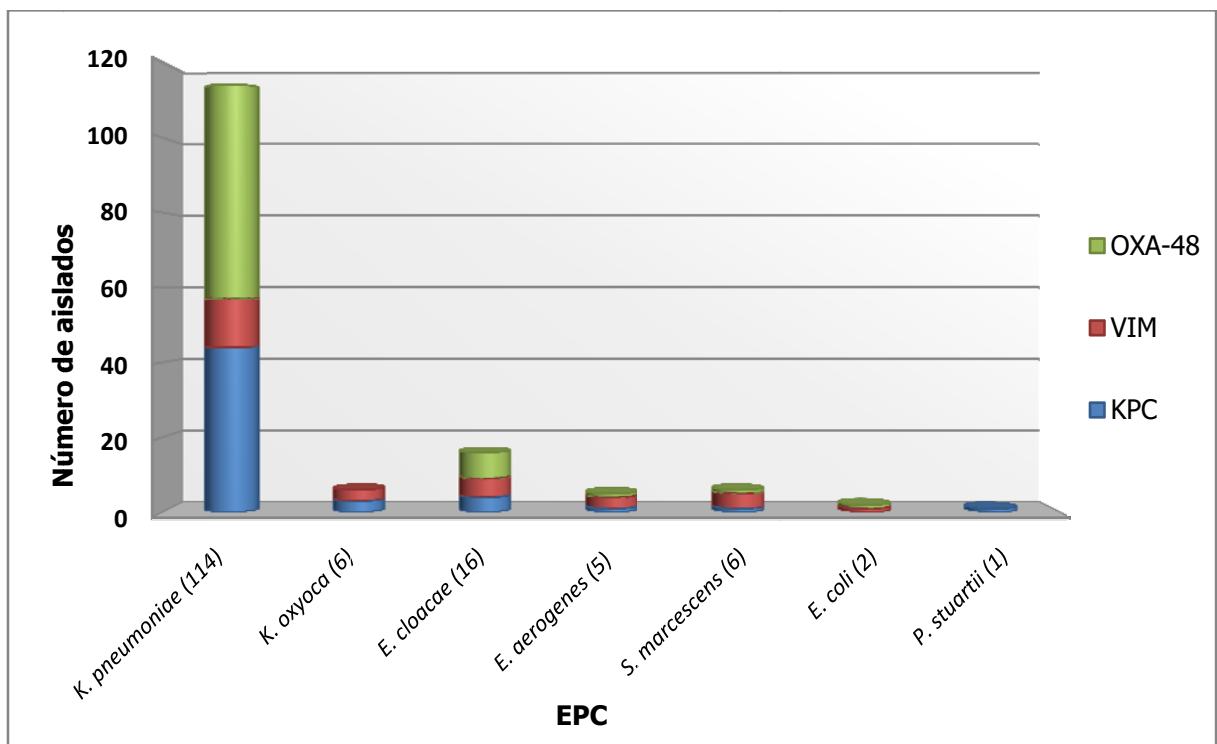
Se analizó el porcentaje de pacientes que habían sido diagnosticados de infección por EPC del total de las muestras clínicas donde se había detectado una EPC. En 33 casos (49.2%) sobre el total de los pacientes infectados, la infección de orina fue el modelo de infección más frecuente, seguido de la infección de piel y partes blandas (18%). La distribución del resto de síndromes infecciosos (bacteriemia, infección respiratoria e infección de herida quirúrgica) tuvieron una distribución similar.

El 34.7% de los pacientes con aislamiento de EPC en orina fueron diagnosticados de ITU; un 70.5% de los pacientes con detección de EPC en exudado de úlcera que tuvieron diagnóstico de IPPB, el 43% de los pacientes con aislamiento en una muestra respiratoria desarrollaron infección respiratoria; el 70% de los diez pacientes que se aislaron en un exudado de herida quirúrgica tuvieron una infección de la herida quirúrgica, el 100% tuvieron bacteriemia y dos de tres pacientes (66.6%) con hallazgo de EPC en un líquido ascítico se diagnosticaron de infección intraabdominal (Figura 10).

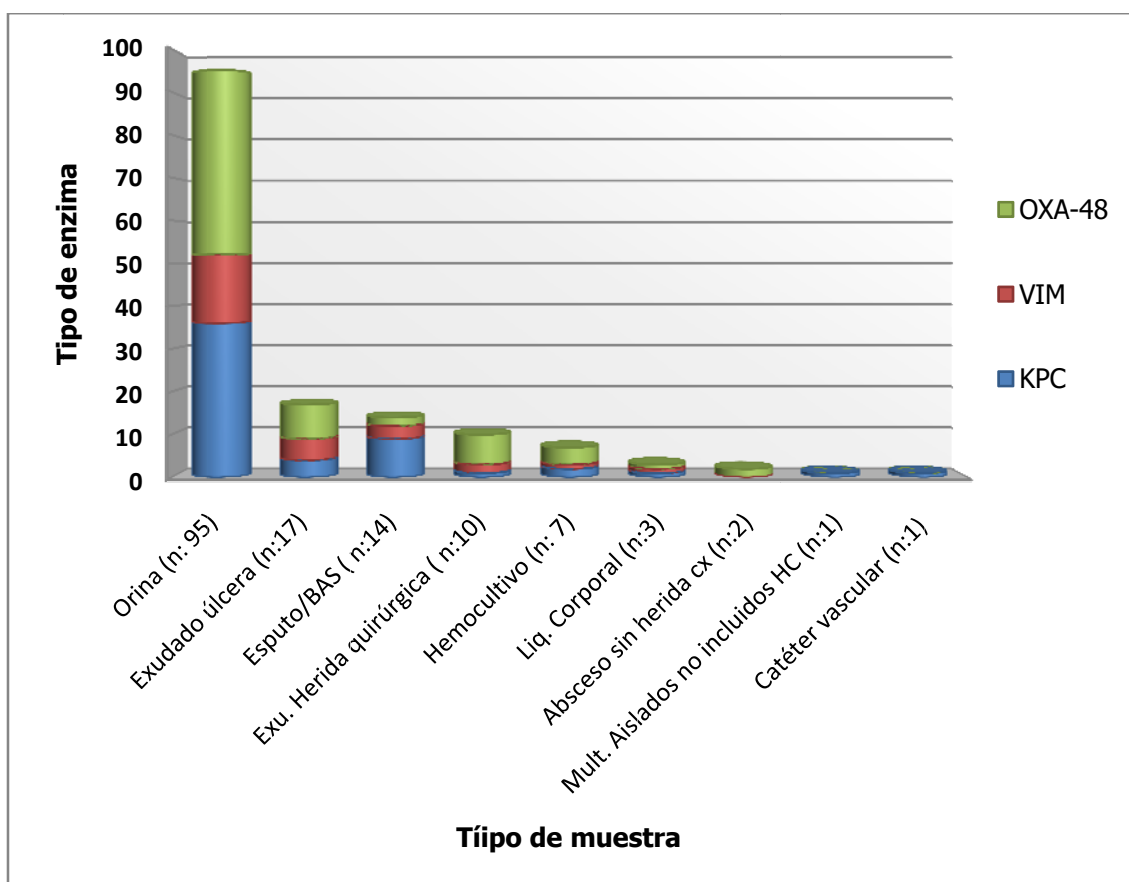


**Figura 10.** Número de casos de infección según la muestra clínica

Los aislados fueron analizados mediante PCR para una enzima de cada grupo, de la clase D (OXA-48), de la clase A (KPC) y del grupo MBL (VIM). De los 150 aislados, el tipo de carbapenemasa más frecuentemente aislada fue OXA-48 (67/150; 45%), seguida de KPC (54/150; 36%). La enzima tipo VIM fue la menos frecuente en aparecer (29/150; 19%). El tipo de carbapenemasa más frecuente en *K. pneumoniae* fue OXA-48 (50%), seguido de KPC (38.5%). En otras especies como *S. marcescens* y *E. aerogenes*, fue VIM la enzima más predominante (66% y 60%). Las enterobacterias con producción de VIM fueron: *K. pneumoniae* (n:13), *E. cloacae* (n:5), *S. marcescens* (n:4), *K. oxytoca* (n:3), *E. aerogenes* (n:3) y *E. coli* (n:1). El resto de distribución de las diferentes especies y enzimas se muestran en la figura 11. La distribución enzimática según el tipo de muestra en las que fueron aisladas se puede observar en la figura 12.



**Figura 11.** Distribución de las carbapenemasas según la especie y el tipo de enzima

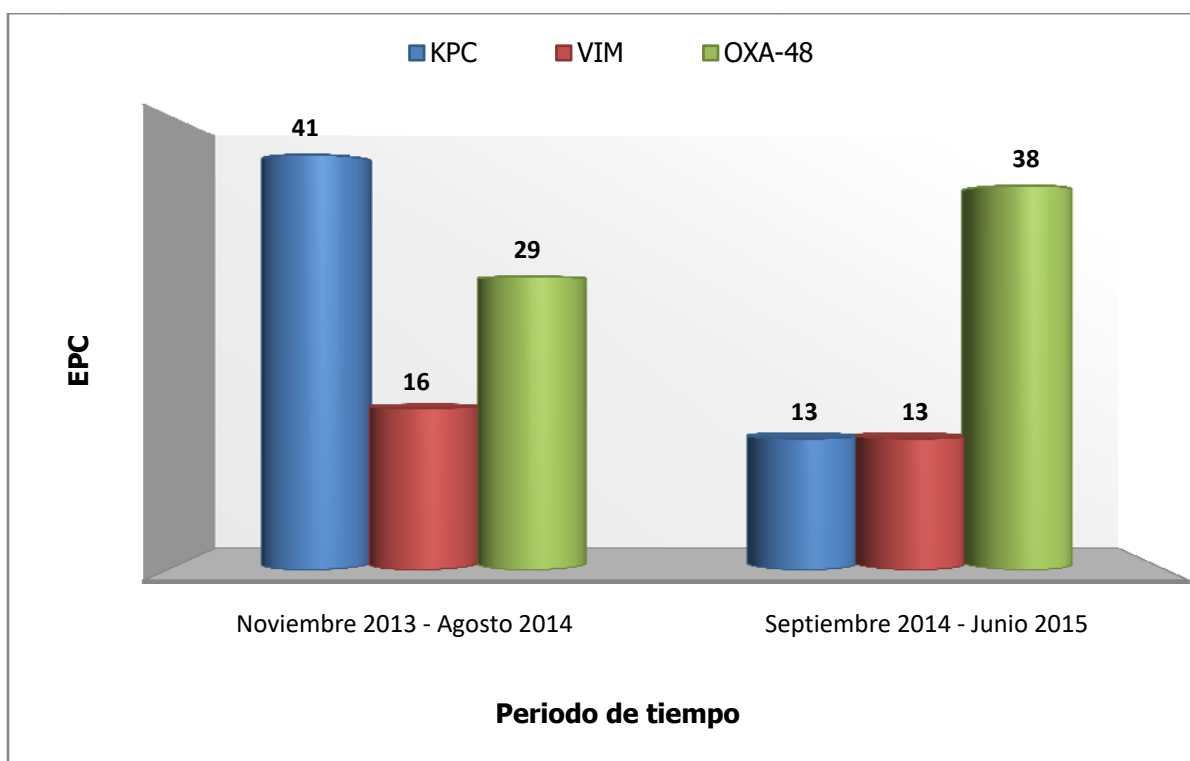


**Figura 12.** Distribución enzimática según el tipo de muestra en las que fueron aisladas

### 3. Distribución temporal de los diferentes genotipos

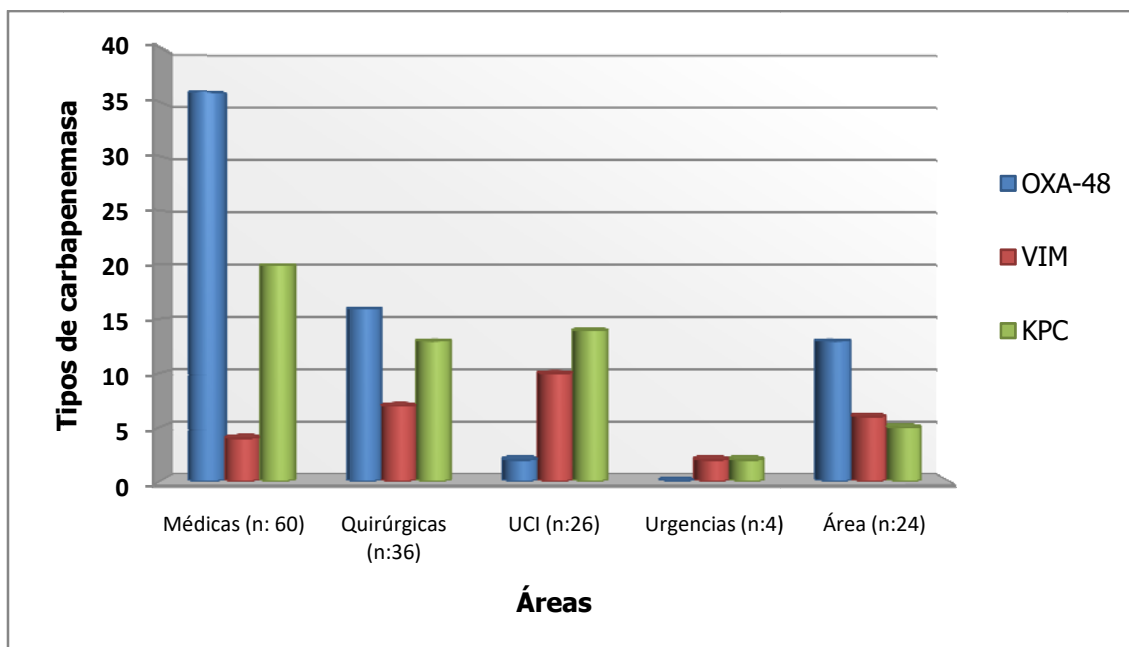
La recogida de datos se realizó durante 20 meses. Para observar mejor la evolución de los diferentes genotipos, se dividió el periodo de tiempo en dos intervalos de diez meses, primer periodo (noviembre 2013 - agosto 2014) y segundo periodo (septiembre 2014 - junio 2015). En la primera etapa se aislaron 86 cepas con predominio de las EPC tipo KPC y en la segunda, el número de aislamientos disminuyó a 64 y el dominio pasó a ser de las EPC tipo OXA-48. El número de pacientes con aislamiento en muestra clínica de EPC tipo VIM permaneció de manera prácticamente constante a lo largo del periodo de tiempo estudiado (Figura 13).





**Figura 13.** Distribución de las carbapenemas en los 2 periodos de tiempo estudiados

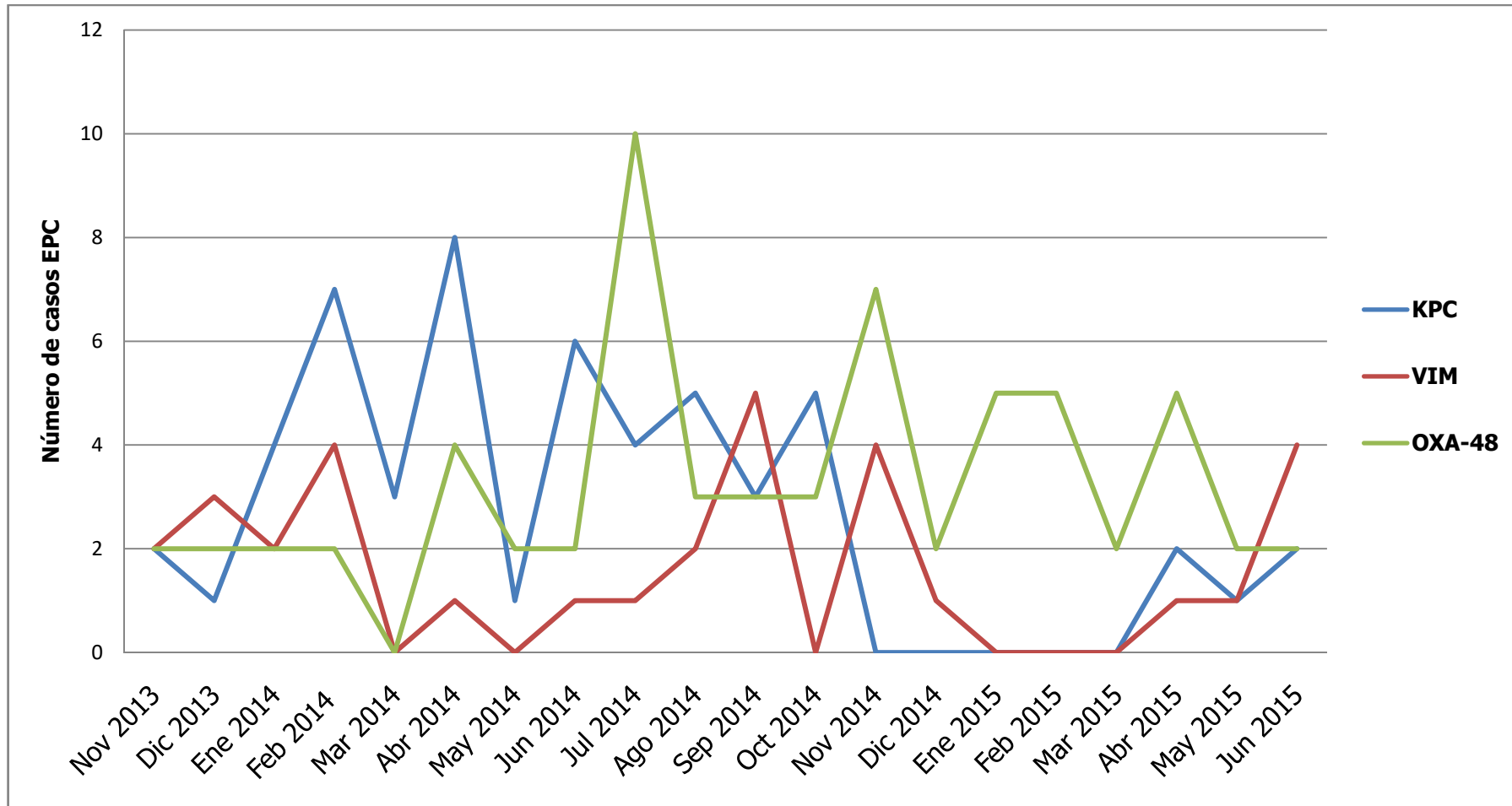
La OXA-48 predominó en las áreas médicas (36/60; 60%) y en los pacientes cuyas muestras procedían de atención primaria. Por su parte, en el servicio de la UCI el predominio fue de los genotipos KPC (14/26; 54%) y VIM (10/26; 38.4%), siendo en este servicio donde se aisló con más frecuencia la EPC tipo VIM durante el periodo de tiempo estudiado. En relación con las áreas quirúrgicas, hubo una detección de manera similar en cuanto a OXA-48 (16/36; 44.4%) y KPC (13/36; 36.1%). El resto de distribución de las diferentes enzimas en las distintas áreas están representadas en la figura 14.



**Figura 14.** Distribución del tipo de carbapenemasa por áreas

La mayoría de las KPC (46/54; 85%) se aislaron entre los meses de enero y octubre de 2014. Fue entre julio y septiembre de 2014 donde se observó que había una mayor detección de número de cepas (36/150; 24%), más concretamente en julio (15), siendo la mayoría de las carbapenemasas aisladas del tipo OXA-48 (10/15; 66.6%). Tras estos meses, se percibió un cambio en la epidemiología, pasando de un elevado número de pacientes con aislamiento de EPC-KPC a un predominio de OXA-48 (figura 15).

## Resultados



**Figura 15.** Distribución de las carbapenemasas a lo largo del periodo del estudio

## 4. Características de sensibilidad a los antimicrobianos

### 4.1 Antimicrobianos carbapenémicos

En cuanto a los carbapenémicos, 147 (98%) aislados fueron resistentes a imipenem, 149 (99%) a ertapenem y 121 (81%) a meropenem, siendo este último el carbapenémico más activo con un 19% de sensibilidad total.

En un estudio multicéntrico dirigido por Tumbarello y cols. (127) sobre infecciones causadas por *K. pneumoniae* KPC, concluyeron que en aquellos pacientes cuyas cepas presentaban una CMI  $\leq 8$  mg/L, la inclusión de al menos un carbapenémico en terapia combinada con otro fármaco tenía un impacto favorable en la supervivencia (127). Por este motivo, se examinaron la cepas con valores de CMI  $\leq 8$  mg/L.

El análisis según el tipo de carbapenemasa mostró que las cepas productoras de KPC y VIM mostraron los porcentajes más elevados de resistencia a los carbapenémicos, presentando ambas el 100% de resistencia a ertapenem, y además, entre las cepas productoras de enzimas VIM, hubo un 100% también de resistencia a imipenem. En cuanto a las cepas OXA-48, un 74.6% fueron resistentes a meropenem y de éstas, 28 (56%) tuvieron una CMI  $>8$  mg/L. El resto de porcentajes de resistencia a los carbapenémicos diferenciados por enzimas se recogen en la tabla 7.

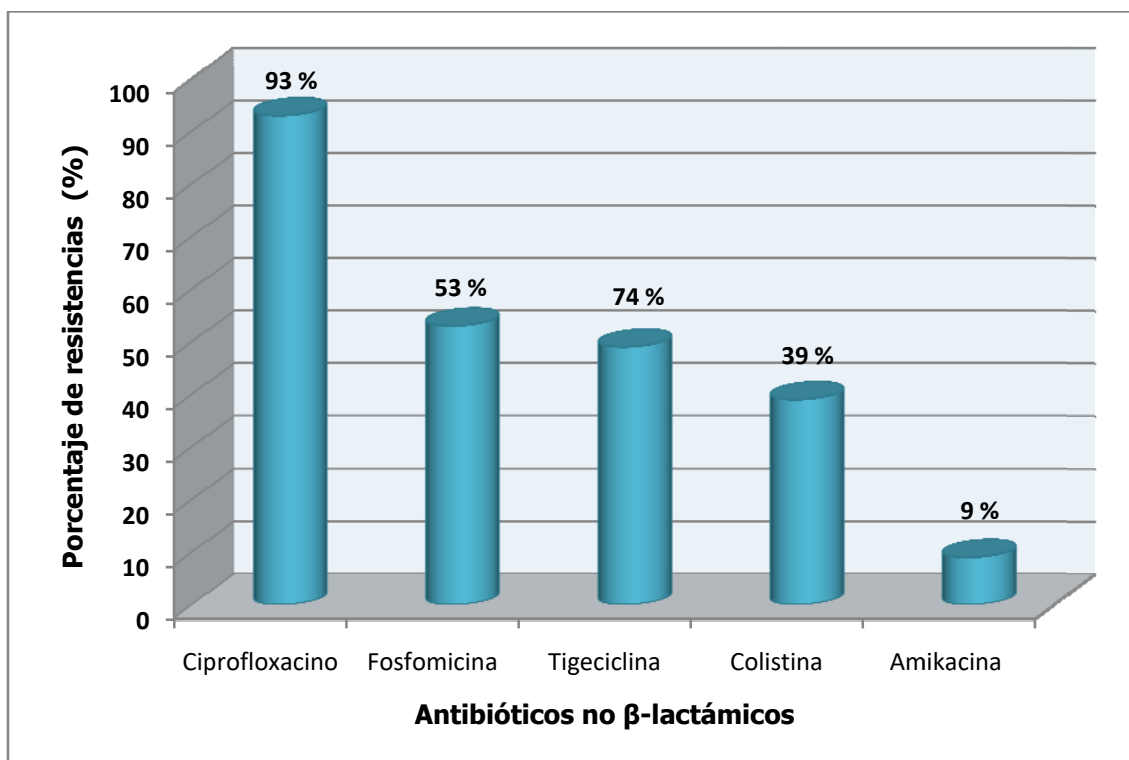
**Tabla 7.** Distribución de los aislados resistentes a los carbapenémicos de cada carbapenemasa caracterizada

ENZIMAS	MEROPENEM			IMIPENEM			ERTAPENEM		
	Total	CMI≤8mg/L	CMI>8mg/L	Total	CMI≤8mg/L	CMI>8mg/L	Total	CMI≤8mg/L	CMI>8mg/L
<b>KPC (54)</b>	53(98.1)	22(41.5)	31(58.4)	48(88.8)	20(41.6)	28(58.3)	54(100)	45(83.3)	9(16.6)
<b>VIM (29)</b>	29(100)	13(44.8)	16(55.2)	23(79.3)	13(56.5)	10(43.4)	29(100)	17(58.6)	12(41.3)
<b>OXA-48 (67)</b>	65(97)	28(43)	37(57)	50(74.6)	22(44)	28(56)	66(94)	47(71.2)	19(28.7)
<b>Total</b>	<b>147</b>			<b>121</b>			<b>149</b>		

#### 4.2 Antimicrobianos no β-lactámicos

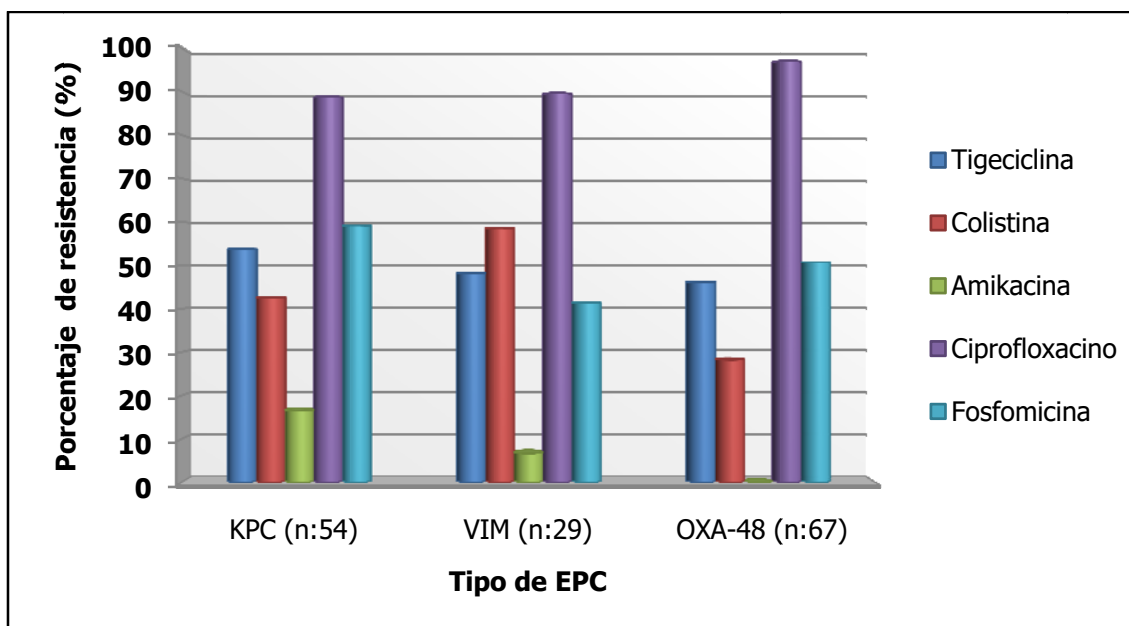
Los resultados de resistencia a tigeciclina, fosfomicina, colistina, amikacina y ciprofloxacino de las EPC se representan en la figura 16. Los puntos de corte utilizados fueron los del CLSI para amikacina y ciprofloxacino y los del EUCAST para fosfomicina y colistina. La interpretación de las pruebas de sensibilidad de tigeciclina se hizo en función de los puntos de corte establecidos por la FDA. Se observaron porcentajes elevados de resistencia a todos los antibióticos testados, salvo amikacina, que fue el más activo con un 9.3% de resistencia, seguido de colistina (34.6%). En el estudio de resistencia a colistina no se incluyeron las cepas de *S. marcescens* y *P. stuartii* ya que se consideran intrínsecamente resistentes a colistina. Los antimicrobianos no β-lactámicos con mayor porcentaje de resistencia fueron ciprofloxacino (139/150; 92.6%), y fosfomicina (79/150 52.6%). También cabe destacar el elevado porcentaje de

resistencia a tigeciclina (74/150; 49.3%). Dos aislados de *K. pneumoniae* fueron resistentes a todos los antimicrobianos testados y cuatro fueron resistentes a todos, excepto a fosfomicina.



**Figura 16.** Distribución de resistencia a antibióticos no β-lactámicos

En la figura 17, se pueden observar los porcentajes de resistencia a los antimicrobianos no β-lactámicos distribuidos por el tipo de carbapenemasa caracterizada. Entre las enzimas KPC y VIM, se observó que las del primer grupo eran más resistentes a amikacina, tigeciclina y fosfomicina, mientras que las del grupo VIM fueron las que más porcentaje de resistencia a colistina presentaron. No se observó resistencia a amikacina en las EPC-OXA-48.



**Figura 17.** Porcentaje de resistencia a los antimicrobianos no  $\beta$ -lactámicos por tipo de carbapenemasa

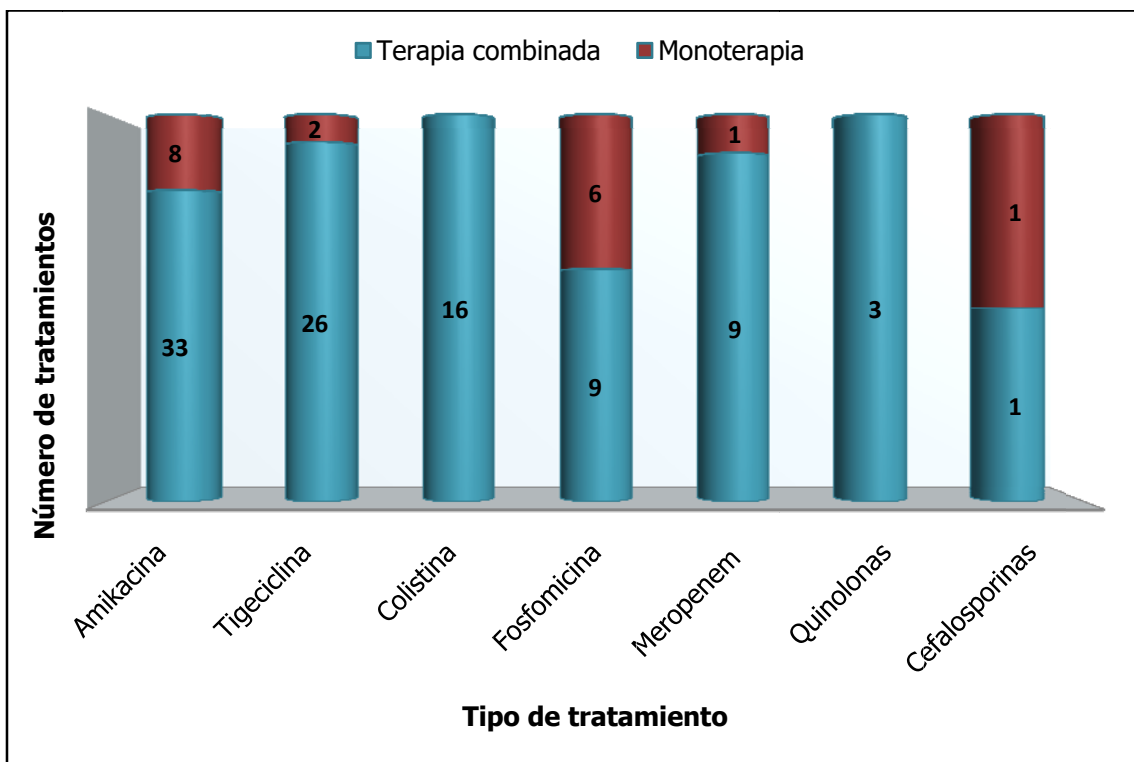
## 5. Antimicrobianos pautados

Los pacientes ingresados con aislamiento microbiológico de EPC en cualquier muestra clínica se dividieron en dos grupos: infectados (67/126; 53%) y colonizados (44/126; 35%). Los pacientes que no recibieron tratamiento con antimicrobianos fue por su estado de colonización (44); 24 pacientes, por su procedencia de área y de los 15 pacientes restantes, el 4.6% habían fallecido en el momento que se conocía que tenían un aislamiento de EPC; el 2% eran pacientes paliativos, por lo que por su condición clínica no se consideraron candidatos a tratamiento, y a un 3.3% de los pacientes se les había dado de alta hospitalaria cuando se conoció el resultado microbiológico.

De los 67 pacientes con un proceso clínico infeccioso por EPC que recibieron tratamiento antimicrobiano, la mayoría (49/67; 73%) recibió terapia

combinada y el 27%, monoterapia. Amikacina, tigeciclina y colistina fueron los antibióticos más pautados, pero fue amikacina el antimicrobiano más prescrito tanto en terapia combinada (49%) como monoterapia (12%) (Figura 18). La combinación terapéutica más prescrita fue amikacina y tigeciclina (23.8%).

Tigeciclina fue el segundo antimicrobiano pautado en frecuencia (39%). En los 16 pacientes (24%) que se administró colistina como tratamiento, el 100% se pautó en terapia combinada. Solo nueve pacientes recibieron meropenem asociado a otro antimicrobiano activo, pero el 100% se administró en perfusión extendida cuando la CMI a meropenem o imipenem era  $\leq 8$  mg/L. Los distintos esquemas terapéuticos prescritos en función del tipo de carbapenemasa aislada se pueden ver en la tabla 8.



**Figura 18.** Distribución del tratamiento prescrito. Monoterapia y terapia combinada



**Tabla 8.** Esquemas terapéuticos prescritos en función del tipo de carbapenemasa aislada

TRATAMIENTO	KPC	VIM	OXA-48
<b>8</b> Monoterapia amikacina	5	0	3
<b>6</b> Monoterapia fosfomicina	2	2	2
<b>2</b> Monoterapia tigeciclina	1	0	1
<b>1</b> Monoterapia meropenem	0	0	1
<b>1</b> Monoterapia ceftazidima	0	0	1
<b>2</b> Terapia combinada meropenem y tigeciclina	2	0	0
<b>16</b> Terapia combinada amikacina y tigeciclina	7	3	6
<b>1</b> Terapia combinada fosfomicina y tigeciclina	0	0	1
<b>1</b> Terapia combinada levofloxacino y tigeciclina	0	0	1
<b>2</b> Terapia combinada ciprofloxacino y tigeciclina	1	1	0
<b>3</b> Terapia combinada colistina y tigeciclina	2	0	1
<b>1</b> Terapia combinada SXT y tigeciclina	1	0	0
<b>5</b> Terapia combinada meropenem y amikacina	0	1	4
<b>1</b> Terapia combinada meropenem y colistina	0	0	1
<b>7</b> Terapia combinada amikacina y colistina	2	3	2
<b>1</b> Terapia combinada amikacina e imipenem	0	1	0
<b>4</b> Terapia combinada amikacina y fosfomicina	1	1	2
<b>1</b> Terapia combinada colistina y ceftazidima	0	0	1
<b>4</b> Terapia combinada colistina y fosfomicina	2	1	1
Total	26	13	28

SXT:Trimetropim-sulfametoxazol

En la tabla 9, se puede observar que de los 95 pacientes con aislamiento de EPC en orina, el 35% (33/95) recibieron tratamiento antibiótico por ITU, de los cuales fallecieron el 36% (12/33). De los 12 pacientes fallecidos con infección de orina por EPC, siete habían recibido terapia combinada. La mayoría

(20/33) de estos pacientes había recibido tratamiento con amikacina en monoterapia o en terapia combinada.

**Tabla 9.** Tratamiento prescrito en infecciones de orina

TRATAMIENTO	ESPECIE Y TIPO DE ENZIMA	MORTALIDAD
<b>Fosfomicina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Fosfomicina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Tigeciclina + Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Tigeciclina + Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Amikacina + Colistina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Amikacina + Tigeciclina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Amikacina + Tigeciclina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Amikacina + Tigeciclina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Colistina + Fosfomicina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	SI
<b>Tigeciclina + SXT</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	SI
<b>Colistina + Fosfomicina</b>	<i>E. cloacae</i> KPC	SI
<b>Meropenem + Tigeciclina</b>	<i>E. aerogenes</i> KPC	NO
<b>Amikacina + Fosfomicina</b>	<i>E. cloacae</i> KPC	SI
<b>Fosfomicina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	NO
<b>Ceftazidima</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	NO
<b>Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	SI
<b>Fosfomicina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	SI
<b>Amikacina + Fosfomicina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	SI
<b>Fosfomicina + Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	NO
<b>Amikacina + Tigeciclina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	SI
<b>Tigeciclina + Colistina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	NO
<b>Colistina + Meropenem</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	NO
<b>Tigeciclina + Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	SI
<b>Amikacina + Meropenem</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	NO
<b>Amikacina + Colistina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	NO

<b>Fosfomicina</b>	<i>K. pneumoniae</i> VIM	SI
<b>Fosfomicina</b>	<i>K. pneumoniae</i> VIM	NO
<b>Colistina + Fosfomicina</b>	<i>K. pneumoniae</i> VIM	NO
<b>Amikacina + Fosfomicina</b>	<i>E. cloacae</i> VIM	NO
<b>Amikacina + Tigeciclina</b>	<i>E. cloacae</i> VIM	SI

De los 17 casos con un aislamiento de EPC en la muestra exudado de úlcera, 12 pacientes (71%) recibieron tratamiento por IPPB, la mayoría (83%) con terapia antimicrobiana combinada y solo 2 pacientes (16%) fueron tratados con monoterapia. Amikacina, tigeciclina y colistina se pautaron con una distribución muy similar en este modelo de infección. En ningún caso se usó meropenem. En cuanto a la evolución de estos pacientes, tres fallecieron. El resto de características se puede observar en la tabla 10.

**Tabla 10.** Tratamiento prescrito en IPPB

TRATAMIENTO	ESPECIE Y TIPO DE ENZIMA	MORTALIDAD
<b>Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	SI
<b>Tigeciclina + Ciprofloxacino</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Colistina + Tigeciclina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	NO
<b>Tigeciclina + Levofloxacino</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	NO
<b>Colistina + Ceftazidima</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	NO
<b>Tigeciclina + Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	SI
<b>Colistina + Fosfomicina</b>	<i>E. cloacae</i> OXA-48	NO
<b>Amikacina + Colistina</b>	<i>K. pneumoniae</i> VIM	SI
<b>Amikacina + Colistina</b>	<i>K. pneumoniae</i> VIM	NO
<b>Amikacina + Colistina</b>	<i>K. oxytoca</i> VIM	NO
<b>Tigeciclina + Ciprofloxacino</b>	<i>E. aerogenes</i> VIM	NO

Se detectó EPC en muestra respiratoria en 14 pacientes, pero solo el 43% fue diagnosticado de infección. Dos pacientes recibieron monoterapia (ambos fallecieron) y los cuatro que recibieron terapia combinada, en un 67% se usó tigeciclina. Tampoco se usó carbapenémicos como tratamiento. Fallecieron el 67% de los pacientes con infección respiratoria (Tabla 11).

**Tabla 11.** Tratamiento prescrito en infección respiratoria

TRATAMIENTO	ESPECIE Y TIPO DE ENZIMA	MORTALIDAD
<b>Tigeciclina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	SI
<b>Meropenem + Tigeciclina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Amikacina + Colistina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	SI
<b>Tigeciclina + Colistina</b>	<i>K. oxytoca</i> KPC	SI
<b>Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	SI
<b>Fosfomicina + Tigeciclina</b>	<i>S. marcescens</i> OXA-48	NO

Siete pacientes fueron tratados por infección de la herida quirúrgica, seis de los siete pacientes se trataron con terapia combinada y en el 100% se usó amikacina en combinación con otro antimicrobiano. En este modelo de infección se administró en tres pacientes un carbapenémico asociado a amikacina (Tabla 12).

**Tabla 12.** Tratamiento prescrito en infección de herida quirúrgica

TRATAMIENTO	ESPECIE Y TIPO DE ENZIMA	MORTALIDAD
<b>Meropenem</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Tigeciclina + Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	NO
<b>Amikacina + Colistina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	SI
<b>Tigeciclina + Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	NO
<b>Amikacina + Meropenem</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	SI
<b>Amikacina + Imipenem</b>	<i>K. pneumoniae</i> VIM	SI
<b>Amikacina + Meropenem</b>	<i>K. pneumoniae</i> VIM	NO

De los siete pacientes con bacteriemia por EPC, todos recibieron tratamiento con antimicrobianos, solo uno de ellos en monoterapia con tigeciclina (el cual falleció) y el resto de pacientes fueron tratados con amikacina (85.7%) asociado a otro fármaco, generalmente con tigeciclina (66.6%). A dos pacientes con bacteriemia por EPC se les pautó meropenem en perfusión extendida (PE) (ambos con *K. pneumoniae* OXA-48) asociados a amikacina, falleciendo uno de ellos (Tabla 13).

**Tabla 13.** Tratamiento prescrito en bacteriemias

TRATAMIENTO	ESPECIE Y TIPO DE ENZIMA	MORTALIDAD
<b>Tigeciclina + Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Tigeciclina + Amikacina</b>	<i>E. cloacae</i> KPC	SI
<b>Tigeciclina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	SI
<b>Amikacina + Meropenem</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	SI
<b>Tigeciclina + Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	NO
<b>Amikacina + Meropenem</b>	<i>K. pneumoniae</i> OXA-48	NO
<b>Tigeciclina + Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> VIM	SI

Las características de los tratamientos de infección intraabdominal se pueden observar en la tabla 14.

**Tabla 14.** Tratamiento prescrito en infección intraabdominal

TRATAMIENTO	ESPECIE Y TIPO DE ENZIMA	MORTALIDAD
<b>Amikacina</b>	<i>K. pneumoniae</i> KPC	NO
<b>Tigeciclina + Amikacina</b>	<i>S. marcescens</i> VIM	NO

La mortalidad general de los pacientes tratados por infección por EPC fue del 37.3% (25/67). Según el síndrome infeccioso, la mortalidad fue del

33.3% (11/33) en diagnosticados de ITU; del 25% (3/12) en pacientes con IPPB, un 67% (4/6) con infección respiratoria; un 50% (3/6) con infección de herida quirúrgica y el 57% (4/7) con bacteriemia por EPC. Analizando la mortalidad según el tipo enzimático de las enterobacterias que producían infección, el 39% (11/28) de los pacientes con infección por OXA-48 fallecieron; un 38.4% (5/13) de los pacientes fallecidos habían tenido infección por EPC-VIM y un 34.6 % (9/26) debido a EPC tipo KPC.

## **6. Resistencia intratratamiento**

Se encontraron cuatro pacientes que desarrollaron resistencia intratratamiento. Nuestro objetivo fue evaluar la relación genética entre los aislados que se realizó mediante rep-PCR (Diversilab). El análisis de los aislados mostró que las cepas estudiadas al inicio y tras el tratamiento estaban muy próximas genéticamente, siendo por tanto la misma cepa la que adquirió el mecanismo de resistencia al antimicrobiano utilizado (Figura 19). En ninguno de los casos se pudo realizar el análisis genómico de resistencia por no disponer de las técnicas adecuadas. Tampoco se determinaron las concentraciones plasmáticas de los antimicrobianos prescritos por inmunocromatografía o quimioluminiscencia para poder establecer una correlación entre estos y la resistencia tras haber sido expuestos al antimicrobiano.

**Caso 1**

Se trata de un varón de 72 años con antecedentes personales de infarto agudo de miocardio que ingresó en cirugía general por isquemia intestinal, por la cual fue intervenido. El paciente estuvo en la UCI dos días y fue portador de sonda vesical durante más de siete días. En el día 90 del ingreso se aisló en el cultivo del exudado de herida quirúrgica un *E. aerogenes* VIM sensible a tigeciclina y ciprofloxacino. Se inició tratamiento endovenoso con tigeciclina 100 mg cada 12 horas y ciprofloxacino 400 mg cada 8 horas durante 30 días. El día 20 del primer aislamiento se informó en un cultivo de una colección abdominal *E. aerogenes* VIM resistente a tigeciclina y ciprofloxacino (Tabla 15).

**Caso 2**

Mujer de 84 años ingresa con antecedentes personales de insuficiencia cardiaca e insuficiencia renal crónica, en el servicio de traumatología por fractura de cadera. La paciente llevó sondaje vesical más de siete días. En el día 11 del ingreso se aisló en orina *K. pneumoniae* KPC sensible a colistina y fosfomicina. Se pautó terapia combinada con colistina 2.5 MU cada 24 horas y fosfomicina 6 gramos cada 24 horas durante 30 días. En el día 28 del primer aislamiento, se obtiene en otro urocultivo con *K. pneumoniae* KPC resistente a los antibióticos previos (Tabla 15).

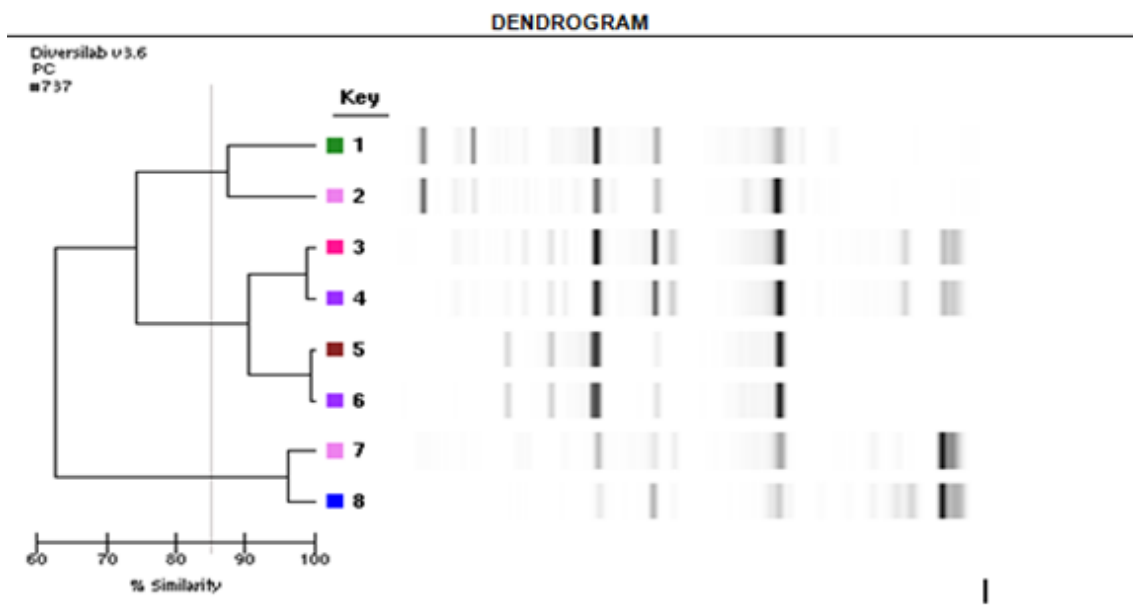
**Caso 3**

Mujer de 82 años, ingresada en medicina interna por episodio de agudización de insuficiencia cardiaca, por lo que fue portadora de sonda vesical durante cinco días: En el día 36 del ingreso en un urocultivo se aísla *E. cloacae* VIM sensible a amikacina y fosfomicina (Tabla 15). Recibió tratamiento con amikacina 1 gramo cada 24 horas y fosfomicina 1 gramo cada 8 horas durante diez días. Al décimo día presentó un cultivo positivo de un exudado de úlcera, aislándose *E. cloacae* KPC resistente a fosfomicina, considerándose ésta como colonización. En este caso, la cepa inicial *E. cloacae* VIM fue sustituida por otra cepa de *E. cloacae* KPC en otra localización.

**Caso 4**

Varón de 75 años con antecedentes personales relevantes de adenocarcinoma de pulmón con metástasis óseas que ingresa en UCI por infarto agudo de miocardio. En el día 30 del ingreso, en un exudado de úlcera, se aisló *K. pneumoniae* VIM solo sensible a amikacina. Recibió tratamiento con amikacina en monoterapia 1 gramo cada 24 horas durante dos días. Al segundo día del primer aislamiento se detecta bacteriemia, aislándose en un hemocultivo *K. pneumoniae* VIM resistente a amikacina. El paciente fallece ese mismo día (Tabla 15).





**Figura 19.** Dendrograma de cepas de enterobacterias productoras de carbapenemasa que desarrollaron resistencia intratratamiento

## Resultados

**Tabla 15.** Características de los casos que desarrollaron resistencia intratratamiento

CASO	AISLADO	MUESTRA	ESPECIE	ENZIMA	SENSIBILIDAD	TRATAMIENTO	DÍAS
1	1	Exudado herida quirúrgica	<i>E. aerogenes</i>	VIM	Tigeciclina ≤0.5 <b>S</b> Ciprofloxacino ≤0.5 <b>S</b>	Tigeciclina 100 mg/12h Ciprofloxacino 400 mg/8h	30 días
	2	Líquido peritoneal	<i>E. aerogenes</i>	VIM	Tigeciclina >4 <b>R</b> Ciprofloxacino 4 <b>R</b>		DÍA 20
2	3	Orina	<i>K. pneumoniae</i>	KPC	Colistina ≤ 4 <b>S</b> Fosfomicina < 16 <b>S</b>	Colistina 2.5 MU/24h Fosfomicina 6 gr/24h	30 días
	4	Orina	<i>K. pneumoniae</i>	KPC	Colistina 48 <b>R</b> Fosfomicina > 1024 <b>R</b>		DÍA 28
3	5	Orina	<i>E. cloacae</i>	VIM	Amikacina 2 <b>S</b> Fosfomicina 64 <b>S</b>	Amikacina 1 gr/24h Fosfomicina 1 gr/8h	10 días
	6	Exudado úlcera	<i>E. cloacae</i>	KPC	Amikacina 16 <b>S</b> Fosfomicina >1024 <b>R</b>		DÍA 10
4	7	Exudado úlcera	<i>K. pneumoniae</i>	VIM	Amikacina 16 <b>S</b>	Amikacina 1 gr/24 h	2 días
	8	Hemocultivo	<i>K.pneumoniae</i>	VIM	Amikacina 64 <b>R</b>	ÉXITUS A LAS 48 H	DÍA 2

## **7. Factores de utilidad clínica para distinguir colonización e infección urinaria en pacientes con aislamiento urinario de EPC**

Para este subestudio se incluyeron un total de 72 pacientes ingresados con aislamiento de EPC en orina, con una edad media de 76.4 años (IQR 23-99), y de los que 40 (55.6%) eran mujeres. Treinta y cuatro pacientes con aislamiento de EPC en orina (47.2%) estaban colonizados y 38 (52.8%) cumplieron con los criterios de ITU, según la definición de CDC.

Treinta y ocho (52.8%) pacientes estaban ingresados en áreas médicas, 19 (26.4%) en áreas quirúrgicas; 11 (15.2%) en la UCI y 4 (8.6%) muestras de orina procedían del servicio de urgencias. En cuanto a la evolución del proceso clínico, 27 (37.5%) pacientes fallecieron, 17 (23.6%) a los 30 días del aislamiento y 10 (13.9%) a los 90 días. La mortalidad fue más elevada en pacientes ingresados en las áreas médicas que en las áreas quirúrgicas (13 de 38 vs 4 de 36;  $p=0.017$ ).

Nuestro estudio mostró que 24 pacientes (33.3%) tenían un índice de Charlson  $\geq 3$ . De los que habían recibido algún procedimiento invasivo, 54 (75%) llevaba sonda vesical; 10 (13.9%) eran portadores de sonda vesical permanente; a 21 (29%) se les realizó una endoscopia digestiva; 12 (16.6%) fueron sometidos a cirugía abdominal y 3 (4%) a procedimientos urológicos. Además, 14 pacientes (19.4%) recibieron descontaminación digestiva selectiva; 19 (26.4%) ventilación mecánica y a 25 (34.7%) se les había colocado un catéter venoso central. El tiempo medio de ingreso fue de 34.19 días (rango: 1-100). El tiempo medio desde el ingreso hasta el primer aislamiento de EPC en orina fue de 22.2 días (rango: 0-96). Veinticuatro pacientes (33.3%) habían

estado ingresados en la UCI y el tiempo medio de estancia fue de 8.18 días (rango: 0-95).

En cuanto al tratamiento antibiótico recibido en los dos meses previos, 53 (73.6%) pacientes recibieron al menos un antibiótico, principalmente con carbapenémicos [31 (43%)], seguido de quinolonas [25 (34.7%)], cefalosporinas [17 (23.6%)], penicilinas con inhibidores [16 (22.2%)] y penicilinas [3 (4.1%)]. En relación con las especies bacterianas aisladas, 58 (80.6%) fueron *K. pneumoniae*; 2 (2.8%) *K. oxytoca*; 7 (9.7%) *E. cloacae*; 2 (2.8%) *E. aerogenes*; 2 (2.8%) *S. marcescens* y 1 (1.4%) *P. stuartii*. El genotipo más frecuente aislado en orina fue 31 (43.1%) KPC, 30 (41.7%) OXA-48 y 10 (13.9%) VIM.

En la tabla 16, se presentan las características clínicas, epidemiológicas y microbiológicas de los pacientes con aislamiento de EPC en orina (colonizados e infectados). Las variables dependientes consistieron en si el paciente con aislamiento en orina de EPC estaba colonizado o infectado.

La infección de orina fue más frecuente en mujeres (62.5% vs 40.6%,  $p:0.065$ ) y en los pacientes con más comorbilidades en el momento del ingreso (58.5% vs 45.2%,  $p:0.260$ ). El porcentaje de pacientes que llevaban sonda vesical permanente fue más alto en infectados que en los colonizados (80% vs 49.2%,  $p:0.07$ ). Las ITU fueron más frecuentes en las áreas médicas (65.8% vs 38.2%,  $p:0.019$ ). El tiempo de estancia media previo al primer episodio de aislamiento de EPC en orina (40.21 vs 32.35 días,  $p:0.112$ ) y la exposición previa a antibióticos fue más frecuente entre pacientes con ITU que en

colonizados (58.5% vs 36.8%,  $p=0.105$ ). El porcentaje de fallecimientos a los 30 días fue más alto en infectados (76.5% vs 45.5%,  $p:0.025$ ).

**Tabla 16.** Características de los pacientes en función de si tenían colonización o infección del tracto urinario

VARIABLE	ITU	COLONIZADO	OR (95% IC)	P valor
Edad (años) [76.4 (29-99)]	81.5 (69-84)	80 (68-85)		0.756
Sexo femenino [40 (55.6%)]	25 (65.8%)	15 (44.1%)		0.065
<b>COMORBILIDAD</b>				
Índice de Charlson $\geq 3$ [48 (66.6%)]	24 (63.2%)	24 (70.6%)	0.71 (0.26-1.92)	0.504
DM sin lesión de órgano diana [10 (13.8%)]	3 (7.9%)	7 (20.6%)	0.33 (0.07-1.39)	0.12
DM con lesión de órgano diana [8 (11.1%)]	3 (7.9%)	5 (15.2%)	0.48 (0.10-2.18)	0.335
IRC moderada o severa [13 (18%)]	7 (18.4%)	6 (17.6%)	1.05 (0.31-3.51)	0.932
IAM [8 (11.1%)]	4 (10.5%)	4 (11.8%)	0.88 (0.20-3.83)	0.867
ICC [15 (20.8%)]	11 (28.9%)	4 (11.8%)	3.05 (0.86-10.73)	0.073
EVP [13 (18%)]	5 (13.2%)	8 (23.5%)	0.49 (0.14-1.68)	0.253
ECV [6 (8.3%)]	3 (7.9%)	3 (8.8%)	0.88 (0.16-4.71)	0.887
Hemiplejia [8 (11.1%)]	7 (18.4%)	1 (2.9%)	7.45 (0.86-64.09)	0.037
Enfermedad del tejido conectivo [4 (5.5%)]	2 (5.3%)	2 (5.9%)	0.88 (0.11-6.68)	0.909
Demencia [15 (20.8%)]	7 (18.4%)	8 (23.5%)	0.73 (0.34-2.29)	0.594
EPOC [10 (13.8%)]	7 (18.4%)	3 (8.8%)	2.33 (0.55-9.86)	0.24
Hepatopatía crónica moderada-severa [3 (4.1%)]	1 (2.6%)	2 (5.9%)	0.43 (0.03-4.99)	0.491
Hepatopatía crónica leve [5 (7%)]	2 (5.3%)	3 (8.8%)	0.57 (0.90-3.66)	0.553
Úlcera gastroduodenal [3 (4.1%)]	2 (5.3%)	1 (2.9%)	1.83 (0.15-21.17)	0.623
Leucemia	0	0		
Linfoma [3 (4.1%)]	2 (5.3%)	1 (2.9%)	1.83(0.15-21.17)	0.623
Tumor sólido sin metastasis [15 (20.8%)]	7 (18.4%)	8 (23.5%)	0.73 (0.23-2.29)	0.594
Tumor sólido con metastasis [8 (11.1%)]	6 (15.8%)	2 (5.9%)	3 (0.56-15.99)	0.182
SIDA	0	0		

<b>ÁREA DE AISLAMIENTO</b>				
<b>Área médica</b> [38 (52,8%)]	25 (65.8%)	13 (38.2%)	3.10 (1.18-8.13)	0.019
<b>Área quirúrgica</b> [19 (26.4%)]	7 (18.4%)	12 (35.3%)	0.41 (0.14-1.22)	0.105
<b>Urgencias</b> [4 (8.6%)]	2 (5.3%)	2 (5.9%)	0.88 (0.11-6.68)	0.909
<b>UCI</b> [11 (15.2%)]	4 (10.5%)	7 (20.6%)	0.45 (0.12-1.71)	0.236
<b>FACTORES DE RIESGO</b>				
<b>DSD [14 (19.4)]</b>	7 (18.4%)	7 (38.2%)	0.36 (0.12-1.06)	0.061
<b>Endoscopia digestiva</b> [21 (29.1%)]	12 (31.6%)	9 (26.5%)	1.28 (0.46-3.56)	0.634
<b>Ventilación mecánica</b> [19 (26.4%)]	9 (23.7%)	10 (29.4%)	0.74 (0.26-2.12)	0.583
<b>Cirugía abdominal</b> [12 (16.6%)]	4 (13.2%)	8 (23.5%)	0.77 (0,30-1,97)	0,598
<b>Sonda vesical</b> [54 (75%)]	30 (78.9%)	24 (70.6%)	1.56 (0.53-5.57)	0.413
<b>SVP</b> [10 (13.9%)]	8 (21.6%)	2 (6.2%)	4.13 (0.81-21.14)	0.070
<b>CVC</b> [25 (34.7%)]	14 (36.8%)	11 (32.4%)	1.22 (0.46-3.23)	0.690
<b>RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS</b>				
<b>Enterobacteria BLEE</b> [17 (23.6%)]	9 (23.7%)	8 (23.5%)	1 (0.33-2.99)	0.988
<b><i>P. aeruginosa</i> R carbapenémicos [5 (6.9%)]</b>	2 (5.3%)	3 (8.8%)	0.57 (0.90-3.66)	0.553
<b><i>S. maltophilia</i> [2 (2.8%)]</b>	1 (2.6%)	1 (2.9%)	0.89 (0.54-14.83)	0.936
<b>KPC [31 (43.1%)]</b>	17 (44.7%)	14 (42.2%)	1.15 (0.45-2.94)	0.761
<b>VIM [10 (13.9%)]</b>	7 (18.4%)	3 (8.8%)	2.33 (0.55-9.86)	0.240
<b>OXA-48 [30 (41.7%)]</b>	13 (34.2%)	17 (50%)	0.52 (0.20-1.34)	0.175
<b>ANTIBIÓTICOS PREVIOS</b>				
<b>Terapia antimicrobiana previa [53 (73.6%)]</b>	31 (81.6%)	22 (64.7%)	2.41 (0.82-7.11)	0.105
<b>Penicilinas</b> [3 (4.1%)]	0	3 (7.9%)	0.39 (0.30-0.50)	0.036
<b>Penicilinas +inhibidores</b> [16 (22.2%)]	9 (16.7%)	7 (18.4%)	0.88 (0.29-2.63)	0.827
<b>Cefalosporinas</b> [17 (23.6%)]	11 (20.4%)	6 (15.8%)	1.36 (0.45-4.07)	0.577
<b>Carbapenémicos</b> [31 (43%)]	20 (37%)	11 (28.9%)	1.44 (0.59-3.52)	0.419

<b>Fluoroquinolonas [25 (34.7%)]</b>	14 (25.9%)	11 (28.9%)	0.85 (0.34-2.17)	0.748
<b>CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS</b>				
<b>Tpo de estancia hasta el aislamiento (días) [22.2 (0-96)]</b>	21.5 (7-34)	15.5(9-30)		0.520
<b>Tiempo de ingreso (días) [34.19 (1-100)]</b>	34.5 (21-53)	25.5 (13-41)		0.112
<b>Mortalidad a los 30 días [17 (23.6%)]</b>	13 (34.2%)	4 (11.8%)	1.36 (0.45-4.07)	0.577
<b>Mortalidad a los 90 días [10 (13.9%)]</b>	7 (18.4%)	3 (8.8%)	1.44 (0.59-3.52)	0.419

DM: Diabetes mellitus; ITU: infección del tracto urinario; DSD: descontaminación selectiva digestiva; CVC: catéter venoso central; SVP: Sonda vesical permanente OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza; BLEE: β-lactamasa de espectro extendido.

La tabla 17 muestra los resultados del análisis multivariable. Las variables independientes seleccionadas para el modelo de regresión logística (Nagelkerke R-square = 0.607;  $p < 0,001$ ), Hosmer & Lemeshow:  $p$ : 0.966, AUC: 90.1%, asociadas a ITU fueron sexo femenino, ingreso en un área médica, ser portador de catéter urinario permanente, haber recibido terapia antimicrobiana en los dos meses previos y estancia media prolongada en el hospital desde el ingreso del paciente hasta el primer aislamiento microbiológico en orina de EPC. El aislamiento de EPC-OXA-48 y la enfermedad vascular periférica (EVP) se comportaron como factores protectores de ITU por EPC.

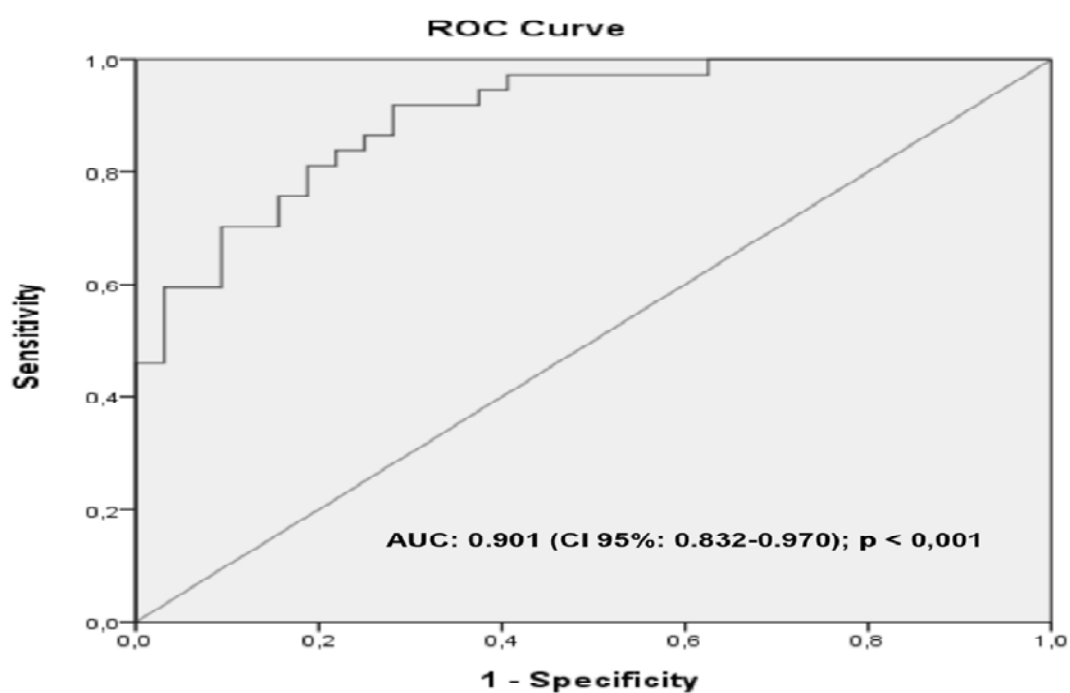
El modelo predictivo desarrollado mostró un área bajo la curva (AUC) de 0.901 (IC del 95%: 0.832-0.970,  $p < 0.001$ ) (Figura20).



**Tabla 17.** Variables independientes asociadas a infección y colonización en pacientes con aislamiento de EPC en orina

VARIABLE	OR (95 %IC)	Pvalor
<b>Sexo femenino</b>	8.595 (1.776-41.592)	0.007
<b>Ingreso en área médica</b>	24.599 (2.605-232.260)	0.005
<b>Portador de catéter urinario</b>	41.216 (2.348-723.443)	0.011
<b>Tto antimicrobiano previo</b>	11.957 (1.752-81.604)	0.011
<b>Estancia media de ingreso</b>	1.049 (1-1.101)	0.049
<b>OXA-48</b>	0.027 (0.002-0.355)	0.006
<b>EVP</b>	0.055 (0.006-0.5)	0.010

EVP: Enfermedad vascular periférica

**Figura 20.** Curva ROC y área bajo la curva (AUC) del modelo predictivo de infección urinaria en pacientes con aislamiento de EPC en orina

## DISCUSIÓN

## **1. Características clínico-epidemiológicas y microbiológicas**

La población de pacientes incluida en este trabajo estuvo constituida por pacientes colonizados y/o infectados por EPC del HCSC durante 20 meses. Sus características demográficas correspondieron a una población en general anciana, con una mediana de edad de 74.2 años; pacientes que debido a su edad tienen más comorbilidad, institucionalización, ingresos y tratamientos antimicrobianos previos, y por ello son más propensos a adquirir una EPC (69, 71).

El aislamiento de una EPC en una muestra clínica no siempre justifica recibir tratamiento antibiótico. En nuestros resultados, un 35% de los pacientes se consideraron colonizados. Es importante tener este concepto en cuenta ya que pueden inducir a un tratamiento innecesario.

El elevado número de pacientes que se consideraron colonizados con aislamiento de EPC en muestra clínica no recibió tratamiento antimicrobiano y las medidas a tomar por parte del hospital fue aislamiento de contacto. Teniendo en cuenta el elevado número de días (22.8 días) de hospitalización hasta el primer aislamiento de estas cepas, sería muy relevante efectuar cribados de vigilancia epidemiológica en pacientes portadores de EPC que tengan factores de riesgo o estén ingresados en áreas con alta frecuencia de aislamiento de estos microorganismos para proceder al aislamiento de contacto y tomar medidas lo antes posible y no esperar a un aislamiento positivo en una muestra clínica.

Munoz-Price y cols revisaron las intervenciones de control tras el aislamiento de EPC, implementadas como bundles. Observaron que ninguna acción por sí sola pudo ser señalada como eficaz. Los autores en el estudio analizaron numerosas variables como el lavado de manos, usar batas y guantes desechables, agrupar pacientes con aislamiento positivo de EPC y al personal que se ocupa de estos pacientes, educación en el hospital de la epidemiología de EPC entre trabajadores de la salud, mayor limpieza ambiental, elaborar informes regulares de control de infecciones de nuevos casos a las unidades afectadas, marcar los casos en el hospital en una base de datos, cierre de las UCI, restricción o disminución del uso de antibióticos, baños diarios de clorhexidina, cultivos de los fómites de los habitaciones de los pacientes e iniciar la vigilancia de portador rectal (45). Durante los brotes o en situaciones endémicas, realizar screening en muestras de heces de los pacientes es apropiado para detectar portadores asintomáticos de EPC y esta medida la han destacado varios estudios desarrollados en Israel como las más importantes dentro de todas las que se deberían tomar para el control de las EPC (128, 129). Además, un estudio reciente en Estados Unidos comparó las prácticas de control de infecciones entre nueve hospitales vecinos y encontraron que aquellos que utilizaron las medidas de vigilancia activa tuvieron más éxito disminuyendo la tasa de adquisición de EPC tipo KPC (130). Se necesitan estudios futuros para identificar el papel de las intervenciones individuales en el control de la propagación de las EPC.

Nuestros resultados mostraron que el origen de la adquisición fue fundamentalmente nosocomial, en consonancia con lo observado en otras

series (44, 131). La adquisición nosocomial ocurrió frecuentemente en pacientes con una hospitalización muy prolongada previa al primer aislamiento de estas cepas (22.8 días), como se ha comentado anteriormente. Algo que no resulta difícil de entender dado el papel que tiene la duración de la hospitalización como factor de riesgo, no sólo de adquisición de EPC, sino de infección en general (127, 132). Pero, aunque los aislamientos de EPC se han encontrado predominantemente de origen nosocomial, la epidemiología de estas bacterias multirresistentes está cambiando y la frecuencia de las EPC adquiridas en la comunidad está aumentando (20, 68, 133-135). Encontramos que cerca del 20% (si unimos las 24 muestras clínicas procedentes de área y las cuatro de urgencias) de todas las muestras clínicas positivas para EPC se obtuvieron de pacientes no hospitalizados, aunque sí asociadas a cuidados sociosanitarios. Este hallazgo describe la existencia de un grupo de personas no hospitalizadas con riesgo de desarrollar infecciones por EPC, como consecuencia de la colonización gastrointestinal. Vale la pena señalar que este grupo de pacientes colonizados por EPC puede considerarse uno de los principales reservorios para la diseminación de estos genes de resistencia en la comunidad y también podría ser responsable de una mayor transmisión dentro del hospital (133).

Dada su relevancia epidemiológica y la escasez de información disponible sobre las EPC adquiridas en la comunidad, los programas de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos probablemente deberían aumentar su enfoque en este problema epidemiológico. Hay que aclarar que en esta tesis no se recogieron los datos de ingreso previo o las variables para clasificar la

adquisición de estos microorganismos como asociados al cuidado sanitario, nosocomial o de origen comunitario.

En general, las EPC OXA-48 y KPC se detectaron en un número relativamente similar en los pacientes ingresados. Sin embargo, entre las muestras clínicas que procedían de área predominaron las EPC OXA-48. Esto puede ser debido a que el gen *bla*OXA-48 pueda persistir circulando entre diferentes cepas de enterobacterias hasta un periodo de tiempo de diez meses (20). Así, la microbiota intestinal puede ser un reservorio de genes EPC en la comunidad, permitiendo la transmisión a contactos cercanos y aumentando, por tanto, la prevalencia de infecciones por EPC adquiridas en la comunidad.

En cuanto a la ubicación de los pacientes en el momento del aislamiento de estas cepas en los casos de inicio hospitalario, tuvo una distribución muy dispersa, pero la mayoría -el 40%- estaba ingresada en áreas médicas, concretamente en el servicio de medicina interna (58%). Este servicio del HCSC se puede considerar como área de alto riesgo por su elevada prevalencia. Para minimizar el impacto de la diseminación de las EPC en áreas con alta tasa de pacientes afectados, es necesaria una respuesta rotunda, coordinada y protocolizada por equipos multidisciplinares, empezando por una detección precoz mediante cribados de estados de portador de EPC a los pacientes con admisión en estos servicios.

Muy frecuentemente, los pacientes que ingresan en medicina interna son pacientes mayores con un elevado índice de Charlson, que, por sus patologías de base, en repetidas ocasiones están en contacto con el sistema sanitario y esto les hace estar más sometidos a un continuo riesgo por diferentes vías para

la adquisición de las EPC. Además, el tiempo de estancia en el hospital de este perfil de paciente, cuando ingresan en medicina interna o también en otros servicios, es elevado, ya que frecuentemente se descompensan sus patologías de base. En este estudio, hemos observado que el porcentaje de pacientes con un índice de Charlson  $\geq 3$  aumentaba de un 53% en el momento del ingreso a un 70% en el momento del aislamiento microbiológico de estas cepas.

Conociendo donde se concentra mayoritariamente el problema en cuanto a las características del paciente y los servicios donde suele ingresar, es obligado aplicar medidas de intervención precoces y proactivas que conllevarían una disminución de costes de estancia media hospitalaria; de uso de antibioterapia de amplio espectro con el coste económico y ecológico que estos implican y de la mortalidad secundarias a estas infecciones, dado que la mortalidad en las áreas médicas fue estadísticamente mayor que en las quirúrgicas.

También se observó que en las áreas de hospitalización de las especialidades quirúrgicas había un importante número de pacientes portadores o infectados por EPC. Una minoría de pacientes -aunque no poco importantes- se detectó en la UCI (17.3%). En un estudio multicéntrico acometido por Oteo y cols. (136) donde estudiaron los pacientes con colonización rectal por EPC en las UCI españolas, también encontraron una baja prevalencia, pero es importante conocer la epidemiología del hospital donde se trabaja, ya que existe una importante variabilidad en las diferentes UCI de los hospitales españoles (136). Esta baja proporción puede deberse a que en la UCI del HCSC se hace un estudio de portador rectal de EPC a todos los pacientes que

ingresan en la UCI, independientemente de si tienen factores de riesgo o no para ser portadores de EPC, medida que no se tomaba en el resto de servicios y, por tanto, los pacientes colonizados por EPC eran sometidos a medidas de control.

Las carbapenemasas tipo KPC (54%) y VIM (39%) fueron las EPC aisladas con más frecuencia en la UCI y *K. pneumoniae* (81%), seguida de *S. marcescens* (15.3%), las especies más frecuentemente afectadas. Estos datos difieren, en parte, con los resultados de un estudio realizado en 45 UCI de hospitales españoles, donde predominaban el tipo OXA-48 (71.5%) y VIM (25.3%), y en cuanto a especies, las proporciones más habituales eran *K. pneumoniae* (74.4%) y *E. cloacae* (10.3%) (66). El 48% de las KPC se aisló en sujetos que estaban en ese momento en la UCI. La cantidad de pacientes detectados con EPC-KPC en el HCSC, en comparación con otros hospitales españoles, tenía su origen en la UCI. Nuestra hipótesis se basa en que si se hubiese llevado a cabo un estudio de clonalidad para el conocimiento en profundidad del brote de KPC en la UCI, posiblemente fuese debido a un mismo clon de *K. pneumoniae* KPC.

El hecho de que haya aislamientos en cualquier área del hospital y fuera de éste, pone de manifiesto el difícil control y la compleja epidemiología de estos casos en este centro, traspasando los límites de los servicios clínicos y del propio hospital, diseminándose en diferentes tipos de pacientes y de ámbitos clínicos.

Durante el periodo recogido en este estudio, no se buscaron reservorios ambientales, ni se hicieron estudios de vigilancia de estado de portador



intestinal. Por esta razón, es posible que hubiese un reservorio importante tanto de pacientes como de fómites sin detectar, hecho que favorece la continua transmisión de estas cepas multirresistentes. Estos programas de cribado en pacientes, como de detección de reservorios ambientales, son muy importantes. Algunos autores han señalado que los reservorios ambientales húmedos, fundamentalmente sifones de lavabos y duchas, han podido actuar como reservorios de EPC (137, 138) y pueden perpetuar la aparición de casos a pesar de que las medidas de control de infección se estén cumplimentando, aunque los reservorios identificados más importantes son los individuos colonizados o infectados.

Identificar el perfil del paciente con riesgo de adquirir EPC puede ayudar en el proceso de decisión del tratamiento empírico y en una precoz implementación de medidas de control de la infección. Los pacientes con aislamiento de EPC tenían una comorbilidad elevada, y un 53 % tenía un índice de Charlson  $\geq 3$ , en línea con lo observado en otras series estudiadas (69). De entre las enfermedades de base, merece la pena destacar el antecedente de neoplasia, ya que el 34% eran pacientes oncológicos (11, 139). Por el contrario, solo encontramos cuatro pacientes con cáncer hematológico, probablemente más por las características del servicio de hematología en materia de protocolos de aislamiento que por la antibioterapia, que a menudo se prolonga en el tiempo. Otras patologías crónicas, como la diabetes mellitus (30%) y la insuficiencia cardiaca (23%), estuvieron también presentes en una proporción significativa de pacientes.

Se observó que el aislamiento de EPC en muestras clínicas estaba relacionado de manera importante con el sondaje vesical y con ser portador de catéteres venosos centrales. Es bien conocido que la presencia prolongada de dispositivos médicos invasivos como estos son factores de riesgo para la colonización o infección por bacterias multirresistentes (11, 140). Un 73.8% de los pacientes portaba dispositivos urinarios en el momento del aislamiento o en los dos meses previos. En los estudios donde esta variable está recogida, la frecuencia de dispositivos urinarios oscila entre el 47% y el 84%, dependiendo de las características de la población incluida (p. ej. paciente crítico) (69, 127). Teniendo en cuenta que ser portador de una sonda vesical es un factor de riesgo importante para la colonización por EPC, como ya han descrito otros autores, la optimización del uso de estos dispositivos podría ser una actividad pertinente, no sólo para prevenir infecciones clínicas sino para prevenir la colonización por estos microorganismos (68, 70, 141). El 57.5 % de los pacientes con aislamiento microbiológico de EPC llevaba o había sido portador de CVC, posiblemente sea a causa del gran número de pacientes que había permanecido en la UCI o en oncología con catéteres centrales, PICs, Midlines...

Las UCI son un importante reservorio para la adquisición de EPC y otras bacterias multirresistentes. El 36.7% de los pacientes había tenido una estancia en los dos meses previos en este servicio, lo cual un ingreso reciente en la UCI aumenta la probabilidad de aislamiento de EPC en nuestros pacientes (142).

El uso de antibióticos es otro factor de riesgo conocido para la adquisición de una EPC. En este estudio un 67.3% de los pacientes recibió tratamiento antibiótico en los dos meses previos al primer aislamiento de EPC.

Asimismo, en un 64.3%, este antibiótico había sido un carbapenémico y un 47.5% había recibido un solo ciclo de antibióticos. Estas cifras reflejan similitud con otros estudios en el que analizaron que los principales factores de riesgo asociados a la adquisición de EPC fueron, además de la estancia hospitalaria prolongada, el uso de antibióticos y, en algunas series, fue la utilización de un carbapenémico (69, 82, 143, 144).

La presencia del tratamiento reciente con cefalosporinas, quinolonas y penicilinas con inhibidores también se constata en este estudio, aunque en menor proporción que los carbapenémicos, pero de igual modo con cifras importantes. En nuestra muestra, las cepas de EPC revelaban un porcentaje de resistencia a quinolonas de un 92.6%, por lo que es fácil concluir que el tratamiento con esta familia de antibióticos podría promover la selección de EPC.

Se quiso conocer también el porcentaje de estos pacientes que habían tenido en los seis meses anteriores aislamientos de enterobacterias BLEE en muestras clínicas. El resultado fue del 26%, dado que al ser los carbapenémicos la primera línea de antibióticos para tratar las cepas productoras de BLEE, muchas de ellas pueden haber sido enfrentadas a carbapenémicos pudiendo ser éste uno de los motivos del elevado consumo de carbapenémicos en esta tesis. En el uso de estos antimicrobianos hay que prestar una especial atención porque el consumo mantenido de carbapenémicos, tanto para el tratamiento de las BLEE y como para el de las infecciones por EPC, genera un aumento de las CMI a estos antibióticos en las EPC, aumentando, no solo la prevalencia, sino también su nivel de resistencia.

El aislamiento microbiológico en una muestra clínica de *S. maltophilia* y/o *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos son datos que pueden señalar a que estos pacientes han sido expuestos previamente a un tratamiento de amplio espectro con carbapenémico. Esta exposición a los carbapenémicos altera la flora, generando una presión selectiva, y aumentando no solo el riesgo de de seleccionar EPC, sino también de otros tipos de microorganismos resistentes a éstos fármacos. El hallazgo de estos microorganismos nos puede poner en alerta de la posible colonización por otros microorganismos resistentes y esto sería útil en el momento de comenzar con un tratamiento empírico.

Estudios de casos y controles han demostrado que casi todas las clases de antibióticos pueden seleccionar EPC (10, 145-149), lo cual significa que si la EPC está presente, cualquier antibiótico, y no solo carbapenémicos, puede contribuir a su selección. Esto es relevante para las intervenciones PROA.

También se ha descrito que la pérdida de poblaciones microbianas, sobre todo anaerobios secundaria a la toma de antibióticos, permiten la expansión de especies bacterianas aerobias o anaerobias facultativas, como son el caso de las enterobacterias, entre otras (150). Por otro lado, existen artículos que subrayan que es más importante el número acumulado de exposiciones previas a antibióticos, en lugar del uso de una clase específica de antibióticos (145, 151), en esta tesis un 20.7% de pacientes habían recibido  $\geq 3$  ciclos de antibióticos en los dos meses previos al primer aislamiento de EPC, mientras que un 47.5% recibió solo un ciclo de antibióticos.

En resumen, los factores de riesgo están asociados con la exposición a los cuidados sanitarios, a los tratamientos antibióticos y a la predisposición

individual frente a la infección (132). Pero también hay que señalar que algunos autores han documentado la transmisión entre convivientes y la detección en animales de compañía, medio ambiente extrahospitalario e individuos sanos (152-155).

Los tipos de muestras clínicas más frecuentes donde se aislaron las EPC fueron orina (63.3%), exudados de úlceras (11.3%) y las respiratorias (9.3%). En general, no existen diferencias en los tipos de infección causadas por EPC de otras enterobacterias, por lo que las infecciones más frecuentes son las infecciones del tracto urinario, las IPPB y las neumonías. Señalar que solo el 10% de los pacientes infectados tenían bacteriemia. Esto es importante porque algunas recomendaciones basadas en estudios observacionales que incluían solo bacteriemias o infecciones severas (p. ej. la potencial superioridad de la terapia combinada o la importancia del uso de un carbapenémico combinado cuando la CMI es  $\leq 8$  mg/L) se pueden aplicar solo a una pequeña proporción de casos con infecciones por EPC.

La especie más predominante fue *K. pneumoniae* en un 76% de los episodios y *E. cloacae* la segunda en frecuencia con un 10.7%. Estos datos coinciden con la mayoría de los trabajos, donde se considera que *K. pneumoniae* y *E. cloacae* son, por orden de frecuencia, las especies con carbapenemasa más frecuentes en España (1, 52, 64, 156). La bacteria *E. coli*, es el patógeno que con mayor asiduidad produce infección del tracto urinario a nivel comunitario y nosocomial (157). Sin embargo, en la cohorte aquí descrita, *K. pneumoniae* fue la especie más frecuentemente aislada en orina (y en el resto de muestras clínicas).

En cuanto a la clase de carbapenemasa, el 45% de los aislados fueron productores de OXA-48, el 36% de KPC y el resto, el 19%, de VIM. En 2009, tuvo lugar el primer brote de OXA-48 en Barcelona (158) y a partir de ese momento, se fueron detectando otros brotes por esta enzima en toda España (159, 160). En el primer periodo de tiempo examinado en esta tesis (noviembre 2013-agosto 2014), se detectaron 86 cepas con predominio de las EPC tipo KPC (41 KPC, 29 OXA-48 y 19 VIM) y en la segunda fase (septiembre 2014-junio 2015), el número de aislamientos de EPC disminuyó a 64, pero el dominio pasó a ser de las EPC tipo OXA-48 (13 KPC, 38 OXA-48 y 13 VIM).

Fue entre los meses de julio y septiembre de 2014 cuando se percibió que había una mayor detección de número de cepas, siendo la mayoría de las carbapenemasas aisladas del tipo OXA-48. Esto dio pie a un cambio de epidemiología, pasando de un elevado número de pacientes con aislamiento de KPC a un predominio de OXA-48. Este cambio de epidemiología que se produjo en el HCSC muy probablemente pudo deberse a que en España a mediados de 2014 hubo un incremento del tipo de carbapenemasa. Este cambio fue liderado fundamentalmente por la diseminación explosiva de carbapenemasa OXA-48, pasando de brotes hospitalarios "independientes" y de "diseminación regional" entre los años 2011-2013 a una "diseminación interregional" a mediados del 2014 (44, 46, 160).

En el servicio de la UCI del HCSC, se detectó un elevado número de KPC y VIM, como se ha comentado anteriormente, y al igual que en otros hospitales españoles, su presencia responde a brotes causados por estas enzimas (47, 67, 161). En consecuencia, esta aparición de KPC en forma de brote en el servicio

de la UCI es lo que puede justificar el elevado número de casos de KPC en este estudio. En cuanto a las EPC-VIM, las menos frecuentemente aisladas, no coincide con lo que ocurría en España en esos momentos, ya que *K. pneumoniae* OXA-48 y VIM eran las causantes de la mayoría de los aislamientos en España. Actualmente las cepas de *K. pneumoniae* productoras de OXA-48 son las responsables de la mayor parte de colonizaciones/infecciones por EPC en nuestro país (160).

La mortalidad se examinó en los pacientes ingresados en el hospital, con una tasa de fallecimientos del 44%. El 56% de los pacientes falleció a los 30 días después de haberse detectado una EPC. Por otro lado, los pacientes infectados por EPC fallecían más (67%) que los colonizados, al igual que los que estaban ingresados en áreas médicas. La mortalidad a los 30 días se contempló como un posible factor atribuible a la adquisición de las EPC, pero nuestra muestra y el diseño de nuestro estudio fue insuficiente para investigar que el fallecimiento a los 30 días era consecuencia de tener una EPC. Otros factores predictores de mortalidad, como comorbilidad y severidad de la sepsis, han sido descritos en otros trabajos de infecciones por *Enterobacteriaceae* multirresistente (86) y no solamente tener una EPC como factor atribuible a la mortalidad. Por ello, es debido que la mortalidad sea mayor en pacientes ingresados en áreas médicas y en pacientes con infección.

## **2. Características de resistencia a antibióticos e implicaciones terapéuticas**

De cara al tratamiento empírico en pacientes con infecciones por EPC, es importante conocer el patrón de resistencia de las cepas que se aíslan en la

población del hospital para poder optimizar el tratamiento antimicrobiano. Este estudio muestra que el meropenem es el carbapenémico más activo in vitro en todas las especies aisladas y para todos los tipos de carbapenemasas. Varias investigaciones proponen que las infecciones por EPC puedan ser tratadas con un carbapenémico en PE si la CMI es  $\leq 8$  mg/L, preferiblemente en combinación a otro antimicrobiano (81, 92, 99). Por ello, se ha calculado el porcentaje de aislados que presentaron esta CMI  $\leq 8$  mg/L. Por enzimas, aproximadamente la mitad de las cepas productoras de KPC, VIM y OXA-48 resistentes a carbapenémicos presentaron esta CMI. Estos datos indican que en un elevado porcentaje de estas cepas podría haberse utilizado algún carbapenémico en el tratamiento de las infecciones, pero, como se verá a continuación, este tratamiento se usó de manera escasa, posiblemente por el escaso conocimiento que se tenía por entonces a nivel general de muchos médicos prescriptores sobre el tratamiento de las infecciones por EPC. También se pone de manifiesto las elevadas tasas de resistencia a las fluoroquinolonas (92.6%), fosfomicina (52.6%), tigecilina (49.3%), y colistina (34.6%). Antibióticos empleados casi exclusivamente para el tratamiento de rescate por estos microorganismos. Destacar en el actual trabajo el incremento de resistencia a la colistina observado en nuestro hospital, del 24.7% en el periodo 2010-2012 (162) al 34.6% de 2013-2015, alertando así del aumento en la resistencia a este antimicrobiano. La amikacina fue el antibiótico no  $\beta$ -lactámico más activo con una tasa de sensibilidad del 90.7%, como coincide con otros estudios (60). Según el tipo enzimático de carbapenemasa, se encontraron diferencias entre el



porcentaje de resistencia amikacina, siendo levemente mayor entre los aislados productores de KPC.

En cuanto al análisis de los tratamientos antimicrobianos que recibieron los pacientes, un 73.1% de los infectados por EPC recibió terapia combinada, en particular amikacina asociada a tigeciclina, pese a no ser un esquema terapéutico del que se conozca su eficacia. Esto es debido a que la mayoría de las cepas (90.7%) eran sensibles a este aminoglucósido y también a tigeciclina. Esto pone de manifiesto el difícil abordaje terapéutico que tienen estas infecciones, lo que obliga a usar esquemas no del todo eficaces por el escaso margen de sensibilidad que ofrecen. Por otro lado, en nuestra serie, colistina era el segundo antimicrobiano no  $\beta$ -lactámico en frecuencia de sensibilidad. Sin embargo, se usó más tigeciclina que colistina, posiblemente porque había pacientes (12%) que tenían enfermedad renal de base, siendo contraproducente para el paciente administrar fármacos nefrotóxicos como amikacina asociado a colistina y con el ajuste de dosis que se hubiese hecho, limitando así el efecto antimicrobiano.

Analizando las terapias antimicrobianas pautadas, como se ha comentado anteriormente, amikacina fue la más pautada y concretamente en infección urinaria. Aunque la monoterapia con aminoglucósidos se ha considerado tan eficaz como otras opciones en el tratamiento de pacientes con ITU, esto no es el caso para otros tipos de infecciones para las cuales estos medicamentos son considerados como inferior a los  $\beta$ -lactámicos (107), pero con todo, posiblemente debido al gran porcentaje de cepas sensibles a éste antimicrobiano, también fue usado en el 50% de las IPPB, en el 85% de las

infecciones de herida quirúrgica y en el 100% de las infecciones intraabdominales. Esta opción terapéutica se ha asociado a más éxito desde el punto de vista de erradicación microbiológica en ITU que la terapia con colistina o tigeciclina (163). Estas diferencias pueden deberse a las características farmacocinéticas de estos antibióticos, cuya concentración en orina respecto a la amikacina es menor en el caso de la colistina y significativamente menor con la tigeciclina.

El segundo antibiótico más usado en frecuencia, tigeciclina, en su mayoría se usó en combinación, (26/28; 93%). Aunque éste no suele verse afectado por las EPC (88, 164), no se recomienda su uso en monoterapia, ya que produce un aumento de resistencia (76, 100). Los dos pacientes tratados con monoterapia fallecieron, uno diagnosticado de bacteriemia y el otro paciente de neumonía. En casos de infección grave, como es el del modelo de infección de estos 2 pacientes, se debería haber usado en terapia combinada y a altas dosis (165). Además, se considera que en neumonías y bacteriemias, son de segunda elección, ya que la administración de tigeciclina alcanza bajas concentraciones en sangre, pulmones y también en orina (99, 103, 166). Posiblemente, ello sea causa de que los ocho pacientes fallecidos tratados en terapia combinada con tigeciclina, cinco tenían foco urinario, dos bacteriemias, y uno con diagnóstico de neumonía.

Todos los tratados con colistina (16) recibieron terapia combinada, y seis fallecieron. Colistina en terapia combinada es uno de los fármacos principales en el tratamiento de las EPC y en algunos estudios aunque la mortalidad con colistina fue alta (21-50%), fue menor que con otros antimicrobianos (96, 99,

145, 167), aunque sí está descrito una falta de eficacia relacionada con dosis subóptimas de antibiótico, por lo que se recomienda dosis altas con función renal normal. La dosificación apropiada es importante para el tratamiento de infecciones por EPC con colistina, como se ha comentado anteriormente, debido al elevado número de pacientes comórbidos y entre ellos con insuficiencia renal de base, es posible que un gran número de pacientes recibiera dosis infraterapéuticas, como se observó también en otros estudios (79, 80, 98, 168), y esto contribuya a una peor evolución clínica.

La elección de fosfomicina se aplicó en un elevado número de pacientes (15), de los cuales la mayoría estaban diagnosticados de ITU. Este antimicrobiano está probado para el tratamiento de ITU no complicada y aunque este fármaco cuenta con una experiencia más limitada, si se sabe que el uso en monoterapia puede generar resistencias, por lo que no se recomienda en infecciones graves (88, 89, 99, 104, 110), se desconoce el dato si los siete pacientes que fallecieron en tratamiento con fosfomicina por ITU padecían infección grave o no.

Para finalizar este apartado, pero no por ello menos importante, hay que remarcar que solo diez pacientes fueron tratados con carbapenémicos. Las características de toxicidad del imipenem han hecho que el meropenem sea el carbapenémico más usado, aumentando la dosis a 2 gramos cada ocho horas en perfusión extendida o 6 gramos al día en infusión continua para conseguir efecto bactericida en las cepas con CMI más elevada, restringiéndose este esquema a EPC con CMI  $\leq 8$  mg/L. Daikos *et al.* encontraron menor mortalidad cuando la terapia combinada contenía un carbapenémico que cuando no lo

presentaba (19.3% vs 30.6%). La mortalidad fue menor si el carbapenémico presentaba CMI  $\leq 8$  mg/L (19.3%) que con CMI  $> 8$  mg/L (35.5%) (81). En cuanto a la terapia combinada con un carbapenémico, mayoritariamente se recurrió a meropenem con amikacina y solo un paciente recibió meropenem con colistina, pese a ser uno de los esquemas mas óptimos (73, 80, 90, 91).

Son muchos los factores que contribuyen a que el resultado del tratamiento de las infecciones de EPC no resulte eficaz por diferentes motivos, empezando porque el tratamiento óptimo de la infección por EPC aún es incierto y las opciones de antibióticos son limitadas. De igual modo, a la hora de individualizar el tratamiento hay que tener en cuenta la sensibilidad de la bacteria a los fármacos y el lugar de la infección y gravedad del paciente, lo cual no permite seguir en numerosas ocasiones las recomendaciones en cuanto a dosis y tipo de esquemas terapéuticos, derivando en un incremento de mortalidad y/o desarrollo de resistencia intratratamiento.

En el estudio de Paño-Pardo y cols, observaron que la instauración precoz del tratamiento antibiótico en menos de 72 horas (al menos con un fármaco activo) fue un factor protector para la mortalidad en bacteriemias por EPC-OXA-48. En nuestro estudio, solo detectamos siete bacteriemias de los 67 pacientes con infección por EPC, y se conoce que el tratamiento pautado tenía un fármaco activo en seis de los siete casos, ya que el restante se trató solo con monoterapia y el paciente falleció. No obstante, se desconoce si la instauración del tratamiento antibiótico fue precoz o no. Esto demuestra la importancia de reconocer la bacteriemia por EPC en el menor tiempo posible para decidir el mejor tratamiento antibiótico. Aquí se refleja la necesidad de un

verdadero trabajo en equipo entre diferentes servicios, como puede ser entre el servicio de microbiología y el servicio de enfermedades infecciosas, entre otros. El tratamiento antibiótico apropiado es uno de los factores que más puede influir en la disminución de la mortalidad en las infecciones por EPC debido a que puede cambiar el curso de la infección. Sin embargo, en otros factores como la comorbilidad o la gravedad de la infección es más difícil intervenir.

### **3. Desarrollo de resistencia intratratamiento**

El manejo de las enfermedades infecciosas en sí es siempre complejo, no sólo por su elevada incidencia y mortalidad, sino por la dificultad de diseñar tratamientos eficaces que minimicen el desarrollo de las resistencias bacterianas en el escenario clínico. Una de las opciones más importantes es la reducción de la exposición al tratamiento antibiótico optimizando mediante la desescalada y el acortamiento de la duración del mismo. En las infecciones por bacterias multirresistentes como las EPC, la desescalada es tremendamente limitada y además no existen todavía guías de tratamientos eficaces ni duraciones establecidas, por lo que su manejo aún genera altas tasas de mortalidad y desarrollo de resistencia intratratamiento. Se intentan explicar aquí varias hipótesis por las que en la práctica clínica habitual se generan resistencias intratratamiento en las infecciones por EPC. La tipificación molecular mediante Diversilab™ mostró que se trataba del mismo clon que había desarrollado resistencia al tratamiento pautado, utilizando la técnica de rep-PCR automatizada.

**Caso 1**

En el día 90 del ingreso, se aisló en el cultivo del exudado de herida quirúrgica un *E. aerogenes* VIM sensible a tigeciclina y ciprofloxacino. Se inició tratamiento con tigeciclina 100 mg cada 12 horas y ciprofloxacino 400 mg cada ocho horas durante 30 días. El día 20 del primer aislamiento, se informó en un cultivo de una colección abdominal *E. aerogenes* VIM resistente a tigeciclina y ciprofloxacino. En este caso, donde se desarrolló la resistencia durante el tratamiento de tigeciclina y ciprofloxacino, probablemente sea debido a la duración excesiva del tratamiento (30 días). A ello se une que el esquema terapéutico indicado no es de elección para el tratamiento de las EPC, aunque las dosis utilizadas de tigeciclina hayan sido las adecuadas. Cada vez son más estudios los que recomiendan que la duración del tratamiento antimicrobiano más corto es eficaz desde el punto de vista de tratar la infección, como del desarrollo de resistencias (169). La tigeciclina sí es una opción para el tratamiento de las infecciones por EPC, tiene actividad bacteriostática, es tiempo-dependiente y posee buena actividad contra las EPC, pero hay que excluir del tratamiento a las especies bacterianas intrínsecamente resistentes (*Proteus* spp., *Morganella* spp., *Providencia* spp.). La pérdida de sensibilidad a tigeciclina se observa con mayor facilidad debido a problemas que afectan a su entrada al interior de la bacteria y su resistencia está aumentando cuando se usa en monoterapia (102, 110). Por otro lado, el tratamiento con ciprofloxacino tiene un impacto ecológico, ya que la mayoría de los aislados de EPC son resistentes (99) y, por tanto, podría haberse producido una selección de resistencia o bien que se hubiesen inducido mutaciones en las topoisomerasas.

**Caso 2**

En el día 11 del ingreso se aisló en orina *K. pneumoniae* KPC sensible a colistina y fosfomicina. Se pautó terapia combinada con colistina 2.5 MU cada 24 horas y fosfomicina 6 gramos cada 24 horas durante 30 días. En el día 28 del primer aislamiento, se obtiene en otro urocultivo con *K. pneumoniae* KPC resistente a los antibióticos previos. Nuestra hipótesis es que el tratamiento recibido de colistina como de fosfomicina eran dosis infraterapéuticas y la duración del tratamiento también fue excesiva (30 días). El tradicional esquema de tratamiento 2 MU/8 horas es inapropiado y las concentraciones plasmáticas de colistina pueden ser bajas. Se recomiendan dosis de carga de 6-9 MU, seguidas de 4,5 MU cada 12 horas (170). Frecuentemente se tiene que ajustar la dosis a la función renal. El incremento del uso de colistina está asociado con la aparición de aislados heterorresistentes debido a la alteración de la estructura del lipopolisacárido (171), ya que son cepas aparentemente sensibles a colistina con una pequeña subpoblación que presentan resistencia a la misma. Esto hace que puedan existir fracasos terapéuticos en cepas teóricamente sensibles, además de que con este tratamiento se podrían seleccionar cepas resistentes (172, 173). También el mecanismo de resistencia a colistina ha podido deberse a la adquisición plasmídica del gen *mcr-1*, aunque éste es menos frecuente y se da principalmente en *E. coli* (114, 116).

En cuanto a la fosfomicina, alcanza altos niveles en suero y orina y rápidamente penetra en tejidos, pero desgraciadamente el desarrollo de resistencia se ha descrito tanto con monoterapia como en terapia combinada en EPC (99, 105). Por tanto, el tratamiento con fosfomicina no es de primera

línea en infecciones graves por EPC cuando existen otros fármacos activos, pero puede ser necesario para pacientes con escasas opciones, como era en nuestro caso. Por consiguiente, la recomendación es terapia combinada con altas dosis de fosfomicina de 16 a 24 gramos al día (99). En estos pacientes, parece que el fallo es la infradosificación. A pesar de emplearlo en combinación, se ha descrito resistencia intratratamiento en el 30% en infecciones complejas por EPC tratadas con fosfomicina y, probablemente, esto tenga relación con garantizar un régimen posológico adecuado ajustado al perfil clínico, al modelo de infección y a la CMI del microorganismo (104, 105).

### **Caso 3**

En el día 36 del ingreso, en un urocultivo se aísla *E. cloacae* VIM sensible a amikacina y fosfomicina. Recibió tratamiento con amikacina 1 gramo cada 24 horas y fosfomicina 1 gramo cada 8 horas durante diez días. Al décimo día presentó un cultivo positivo de un exudado de úlcera, aislándose *E. cloacae* KPC resistente a fosfomicina, considerándose ésta como colonización. En este caso, la cepa inicial, *E. cloacae* VIM fue sustituida por otra cepa, *E. cloacae* KPC en otra localización. Probablemente, el desarrollo de resistencia durante el tratamiento y el cambio enzimático estén motivados por la adquisición de un plásmido de resistencia previamente ausente en la cepa infectante y/o que estuviese colonizado por diferentes tipos de EPC aunque puede darse también por un fallo de infradosificación de fosfomicina (99), como se ha comentado anteriormente.



**Caso 4**

En el día 30 del ingreso en un exudado de ulcera, se aisló *K. pneumoniae* VIM solo sensible amikacina. Recibió tratamiento con amikacina en monoterapia 1 gramo cada 24 horas durante dos días. Al segundo día del primer aislamiento se detecta bacteriemia, aislándose en un hemocultivo *K. pneumoniae* VIM resistente a amikacina. El paciente fallece ese mismo día. La monoterapia con amikacina puede considerarse en el tratamiento de infecciones menos graves, como la bacteriemia relacionada con el catéter (si el catéter se retira) o la ITU. De lo contrario, los aminoglucósidos deberían usarse en combinación (87, 110). A la hora de tratar una infección por EPC con amikacina, las concentraciones séricas son importantes sobre todo para los pacientes graves. Éste fallo de farmacodinamia puede favorecer el desarrollo de resistencias intratratamiento y fracaso terapéutico (174).

En general, la resistencia intratratamiento en las EPC se puede responder a la presencia de genes de resistencia a aminoglucósidos (codifican enzimas modificantes de aminoglucósidos o metilasas) y a quinolonas (mutaciones en las topoisomerasas o presencia de genes de resistencia transferibles) entre otras. La transferencia de elementos genéticos móviles es un fenómeno altamente frecuente, tanto entre bacterias de la misma especie como entre géneros diferentes, y esto se podía traducir en generación de resistencia a los antibióticos anteriormente sensibles. Además, un mismo plásmido puede contener más de un gen responsable de resistencia, desencadenándose en la misma bacteria resistencia a varias familias de antibióticos y cada una de ellas por diferentes mecanismos como bombas de expulsión o expresión de enzimas.

La elección de un agente antimicrobiano requiere considerar factores como: patrones locales de resistencia; la identificación del agente etiológico y su perfil de susceptibilidad; las características del antimicrobiano (propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas, capacidad bactericida, espectro de acción, concentración en diferentes parénquimas o líquidos biológicos, forma de administración e intervalos); factores dependientes del huésped (sitio de infección, prótesis, estado de inmunidad) y el entorno en donde se adquiere la infección (80, 99). En resumen, debido a que el tratamiento antimicrobiano óptimo aún no ha sido definido, que la farmacodinámica de estos viejos fármacos que han reflatado aún no se conoce en su totalidad y que los regímenes de dosificación aún no están claramente establecidos son factores que pueden llevar al fracaso terapéutico desarrollando resistencia intratratamiento por lo que debería monitorizarse la misma.

Este apartado del estudio tiene una serie de limitaciones debido a que no hemos analizado el mecanismo de resistencia generado, ni se ha estudiado la farmacocinética y farmacodinamia de los fármacos para poder establecer si las dosis eran realmente subóptimas y éstas poder ser la causa de la resistencia intratratamiento. Pero se ha puesto de manifiesto los numerosos factores, algunos de difícil control, que pueden participar al cambio de sensibilidad durante el tratamiento recibido.

#### **4. Factores de utilidad clínica para discriminar entre colonización e infección urinaria en pacientes con aislamiento urinario de EPC**

Debido al elevado número de cepas de EPC aisladas en orina y que la ITU nosocomial es la infección más frecuente, todos los días el clínico se enfrenta ante un escenario donde se encuentran aislamientos positivos de EPC en orina entre los que es difícil de interpretar entre colonización e infección en algunos pacientes. Por estos motivos, se procedió a hacer un análisis en este tipo de población. Frecuentemente, los pacientes con aislamiento de EPC en orina son personas ancianas, están inmunodeprimidas o tienen comorbilidades, factores que pueden inducir manifestaciones clínicas atípicas que obstaculizan el enfoque inicial. Por otro lado, hay una tendencia de prescripción antimicrobiana de amplio espectro en este tipo de pacientes debido a la complejidad de su diagnóstico, que puede conducir en un exceso de coste económico y generar un impacto ecológico como resultado del uso innecesario de antibióticos. Por último, el tratamiento de este tipo de infecciones por EPC requiere generalmente altas dosis de antimicrobianos que podrían aumentar los riesgos de toxicidad (80, 91, 155). De manera que necesitamos herramientas para ayudarnos en las decisiones clínicas, especialmente en aquellos pacientes en los que los signos clínicos o analíticos no son suficientemente sugestivos de infección. A continuación, se discuten los factores estudiados en esta tesis que están asociados de forma independiente con un mayor riesgo a padecer ITU por EPC.

En general, la ITU por microorganismos multirresistentes esta frecuentemente relacionado con la presencia de dispositivos urológicos permanentes (sonda vesical, Pig-tail, doble J), ya que estos dispositivos favorecen la colonización de las bacterias en sus paredes y se genera un entorno favorecido por la presión antibiótica y los mecanismos fisiológicos de defensa también están alterados. Esta situación de presión antibiótica favorece la selección de cepas resistentes capaces de transferir esta resistencia a otras *Enterobacteriaceae* en elementos genéticos móviles (20), aunque también la diseminación se puede favorecer por la transmisión cruzada a través de las manos del personal sanitario (175-177). En este estudio, el catéter vesical permanente es un factor de riesgo estadísticamente significativo para tener ITU por EPC, de hecho la duración del cateterismo es el factor de riesgo más importante para tener ITU por cualquier microorganismo (121, 175, 176). Dada la dificultad de establecer un diagnóstico de ITU en pacientes con catéter urinario permanente, debido a los síntomas inespecíficos, podría estar justificado comenzar con tratamiento antibiótico en ausencia de otro foco en pacientes con catéter urinario con aislamiento en orina de EPC que comiencen con fiebre y/o leucocitosis (178, 179). Por lo tanto, es de gran importancia que los médicos consideren diariamente la necesidad de mantener el sondaje vesical, para evitar el sobretratamiento innecesario de los pacientes y la transferencia de genes de resistencia en estos reservorios clínicos.

Por último, cualquier antibiótico de amplio espectro, no solo carbapenémicos, pueden contribuir a la selección de EPC (82, 178) y en nuestra población estudiada, la mayoría de los pacientes con ITU por EPC había recibido

tratamiento antibiótico con penicilinas, penicilinas + inhibidores, cefalosporinas, fluoroquinolonas o carbapenémicos. El cateterismo urinario, especialmente en mujeres (por la proximidad anatómica al recto), y en ancianos (que con frecuencia son comórbidos) con tratamiento antimicrobiano previo ingresados en áreas médicas y con una estancia prolongada, fueron principales combinaciones predisponentes para tener una ITU por EPC (83, 180).

Los factores estudiados como factor de protección para tener una ITU por EPC fueron la EVP y el aislamiento de una EPC-OXA-48. La EVP es un factor que conlleva que los pacientes puedan tener afectación arterial y esto favorezca el desarrollo de úlceras entre otras entidades (181). Sabemos que la cicatrización de las úlceras formadas por este proceso es complicada y lenta y muchos pacientes precisan repetidas curas para la correcta cicatrización de éstas. Esta continua necesidad de cuidados sanitarios puede llevar a que estos pacientes sean más propensos a la colonización que a la infección por EPC y, en general, por cualquier bacteria multirresistente.

Desde el punto de vista microbiológico, el aislamiento de una EPC tipo OXA-48 en las muestras de orina son cada vez más frecuentes, a menudo entre pacientes asintomáticos. Esto podría deberse a la eficiente diseminación del gen *bla*OXA-48 entre la flora entérica de los pacientes hospitalizados que facilitan una alta tasa de colonización y eso conduce a una mayor dispersión de esta enzima que da pie a una situación epidemiológica compleja con un alto número de individuos colonizados (44, 64). El gen *bla*OXA-48 está alojado en un plásmido conjugado cuyo gen codifica una proteína que inhibe conjugación

bacteriana, lo que conduce a un aumento en la frecuencia de conjugación de plásmidos y diseminación eficiente del gen *bla*OXA-48, si bien la diseminación clonal también contribuye al éxito de las OXA-48 (61). En España, una cantidad importante de *K. pneumoniae* OXA-48 se agrupa en unos pocos clones. En un estudio multicéntrico efectuado en 2013, más del 74% de los aislamientos pertenecen a tan solo cuatro secuenciotipos (ST11, ST405, ST15 y ST 326) (64) y posiblemente sea el factor clave para la difusión exitosa de este plásmido (182, 183) y así persistir en la microbiota endógena. Aunque no hay diferencias en la virulencia entre los diferentes tipos enzimáticos de EPC, nuestros resultados mostraron que OXA-48 era más frecuente en pacientes colonizados. En el estudio de Lázaro-Perona y cols. a los pacientes dados de alta portadores de EPC-OXA-48, se les aplicó un seguimiento y observaron que las cepas originales de *K. pneumoniae* OXA-48 adquiridas en el hospital desaparecieron cerca del mes después del alta, pero el gen *bla*OXA-48 persistió circulando entre diferentes cepas de enterobacterias hasta diez meses y se encontró en diferentes especies de *Enterobacteriaceae*, principalmente *E. coli*, pero también *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*, lo que sugiere que los plásmidos se habían transmitido in vivo a algunas cepas de la microbiota endógena. Similares observaciones se han descrito también en *K. pneumoniae* OXA-48, en el que la dinámica del plásmido a lo largo del tiempo incluyó varios reordenamientos y se transmitió in vivo a otras cepas y especies (134). Se cree que los plásmidos que llevan genes de resistencia pueden ser una carga para las células del huésped en ausencia de presión antibiótica.

La complejidad terapéutica de las infecciones causadas por EPC, asociada a su rápida propagación a través de hospitales, hace del abordaje de este proceso uno de los desafíos más difíciles en la patología infecciosa. Resulta capital maximizar las medidas de control de infecciones y optimizar las políticas de antibióticos. El estudio llama la atención sobre el grave problema de los microorganismos multirresistentes. Las infecciones por EPC traspasan los límites de los servicios médicos, quirúrgicos y del propio hospital, diseminándose en diferentes tipos de pacientes y de ámbitos clínicos. Mientras estamos a la espera de nuevos antibióticos, es importante conocer la epidemiología local, revisar e intensificar las medidas de control y actualizar las políticas antibióticas a nivel hospitalario y extrahospitalario, favoreciendo el uso prudente de los mismos.

## **CONCLUSIONES**



1. La especie donde más frecuentemente se detectaron carbapenemasas fue *K. pneumoniae*. Las EPC de tipo OXA-48 y KPC se detectaron en una proporción similar en pacientes ingresados, pero en las muestras clínicas que procedían del área predominaban las OXA-48. Durante el periodo de estudio se constató un desplazamiento en la incidencia de aislamientos, siendo mayoritario el de KPC en 2014 y OXA-48 en 2016.
2. En la mayor parte de los pacientes con aislamiento de EPC concurrían una edad avanzada, una elevada comorbilidad (índice de Charlson  $\geq 3$ ) y frecuentemente existía el antecedente de neoplasia activa. Los principales factores predisponentes al aislamiento de EPC fueron una estancia hospitalaria prolongada, la exposición previa a tratamiento antimicrobiano y la instrumentalización (sobre todo sondaje vesical y catéter venoso central).
3. El tratamiento previo con carbapenémicos se relacionó muy frecuentemente con el aislamiento de EPC. Sin embargo, un elevado número de pacientes había recibido además cefalosporinas, quinolonas, penicilinas y/o penicilinas con inhibidores de beta-lactamasas.
4. Más de la mitad de los aislamientos de EPC procedentes de muestras clínicas tuvieron significación infecciosa y en un tercio de las ocasiones se consideró como colonización.
5. El aislamiento del genotipo OXA-48 en orina se relacionó más con colonización urinaria que con infección del tracto urinario.

6. La infección urinaria, seguida de IPPB secundaria (úlceras), fueron los modelos de infección más frecuentemente relacionados con el aislamiento de EPC en este estudio.
7. Amikacina fue el antibiótico que con mayor frecuencia mantuvo actividad in vitro frente a las EPC, con independencia de la especie y del tipo de enzima.
8. La combinación de amikacina y tigeciclina fue el esquema terapéutico más pautado para el tratamiento de las infecciones por EPC.
9. Meropenem e imipenem presentaron  $CMI \leq 8\text{mg/L}$  en un elevado porcentaje de EPC, permitiendo esta situación el empleo de estos fármacos en combinación y siguiendo un modelo farmacodinámico óptimo (perfusión extendida).
10. Un tercio de los pacientes con aislamiento de EPC, en calidad de colonizador o patógeno, fallecieron a los 30 días, comportándose el aislamiento de EPC, aun sin ser responsable directo, en un indicador pronóstico
11. Sería necesaria la monitorización microbiológica y farmacodinámica para la detección del desarrollo de resistencia intratratamiento por los múltiples mecanismos que pueden favorecerlo.

Las principales limitaciones del estudio procedieron del diseño del estudio, observacional y retrospectivo, con las dificultades que ello conlleva. Entre las limitaciones, se encuentran que los pacientes incluidos no constituyen un grupo homogéneo en cuanto al tipo de infección que presentaron (se incluyeron bacteriemias, neumonías, ITU...) y no se recogió el tipo de gravedad de infección, por tanto, la mortalidad o la efectividad del tratamiento pudiera depender, no únicamente de la resistencia antimicrobiana del microorganismo, sino también de la gravedad de la infección. Dado que las bacteriemias o las neumonías tienen un peor pronóstico que las infecciones del tracto urinario o que el de otras infecciones más superficiales, la inclusión de pacientes con cualquier infección clínica podría estar sesgando los resultados del efecto de la infección.

El tamaño muestral fue otra limitación importante. Por otro lado, no se pudo realizar un estudio exhaustivo de los diferentes mecanismos que podrían haber sido responsables del desarrollo de resistencia intratratamiento, ni de las consideraciones farmacodinámicas. Por último en nuestro país y en nuestro entorno hospitalario existe una gran prevalencia de colonización e infección por EPC, pero los datos derivados de los estudios unicéntricos presentan dificultades para ser extrapolados a otros centros.

En los resultados del artículo anexo publicado con datos preliminares de esta tesis con título "Useful independent factors for distinguish infection and colonization in patients with urinary carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* isolation", en la revista científica de la Sociedad Española de Quimioterapia en el año 2017, existe una errata ya que se consideró la

enfermedad vascular periférica como un factor de riesgo para infección del tracto urinario por EPC, pero realmente es un factor relacionado con la colonización, al igual que el aislamiento de la EPC tipo OXA-48. En esta tesis, se han descrito los resultados, la discusión y conclusiones con los datos correctos, habiendo corregido dicha errata.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Miro E, Segura C, Navarro F, Sorli L, Coll P, Horcajada JP, et al. Spread of plasmids containing the bla(VIM-1) and bla(CTX-M) genes and the qnr determinant in *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* isolates. *J Antimicrob Chemother*. 2010 Apr;65(4):661-5.
2. Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in acute care facilities. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2009 Mar 20;58(10):256-60.
3. Antibiotic resistance in Europe: the challenges ahead. *Euro Surveill*. 2009 Nov 12;14(45).
4. Tojo R, Suarez A, Clemente MG, de los Reyes-Gavilan CG, Margolles A, Gueimonde M, et al. Intestinal microbiota in health and disease: role of bifidobacteria in gut homeostasis. *World J Gastroenterol*. 2014 Nov 07;20(41):15163-76.
5. <Murray PR, Rosenthal KS, Pfaüer MA. *Enterobacteriaceae*. *Microbiología médica*. Madrid. Elsevier 2007.p.323-338.pdf>.
6. Carpenter JL. *Klebsiella* pulmonary infections: occurrence at one medical center and review. *Rev Infect Dis*. 1990 Jul-Aug;12(4):672-82.
7. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2004 Feb;2(2):123-40.
8. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. 1998 Jan;11(1):142-201.
9. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev*. 1998 Oct;11(4):589-603.
10. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008 Dec;29(12):1099-106.
11. Akova M, Daikos GL, Tzouveleki L, Carmeli Y. Interventional strategies and current clinical experience with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect*. 2012 May;18(5):439-48.
12. Kahan JS, Kahan FM, Goegelman R, Currie SA, Jackson M, Stapley EO, et al. Thienamycin, a new beta-lactam antibiotic. I. Discovery, taxonomy, isolation and physical properties. *J Antibiot (Tokyo)*. 1979 Jan;32(1):1-12.
13. Suarez C, Gudiol F. [Beta-lactam antibiotics]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009 Feb;27(2):116-29.
14. Martinez MJ, Garcia MI, Sanchez EG, Sanchez JE. [Available carbapenems: Properties and differences]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010 Sep;28 Suppl 2:53-64.

15. Davies TA, Shang W, Bush K, Flamm RK. Affinity of doripenem and comparators to penicillin-binding proteins in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 Apr;52(4):1510-2.
16. Jones RN, Sader HS, Fritsche TR. Comparative activity of doripenem and three other carbapenems tested against Gram-negative bacilli with various beta-lactamase resistance mechanisms. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2005 May;52(1):71-4.
17. Greenwood D, O'Grady F. Resistance categories of enterobacteria to beta-lactam antibiotics. *J Infect Dis*. 1975 Sep;132(3):233-40.
18. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new beta-lactamases. *N Engl J Med*. 2005 Jan 27;352(4):380-91.
19. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! *Trends Mol Med*. 2012 May;18(5):263-72.
20. Lazaro-Perona F, Ramos JC, Sotillo A, Mingorance J, Garcia-Rodriguez J, Ruiz-Carrascoso G, et al. Intestinal persistence of a plasmid harboring the OXA-48 carbapenemase gene after hospital discharge. *J Hosp Infect*. 2018 Jul 11.
21. Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo-beta-lactamases: a last frontier for beta-lactams? *Lancet Infect Dis*. 2011 May;11(5):381-93.
22. Albiger B, Glasner C, Struelens MJ, Grundmann H, Monnet DL. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Euro Surveill*. 2015;20(45).
23. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 1980 May 16;289(1036):321-31.
24. Bush K. Recent developments in beta-lactamase research and their implications for the future. *Rev Infect Dis*. 1988 Jul-Aug;10(4):681-90.
25. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995 Jun;39(6):1211-33.
26. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Mar;54(3):969-76.
27. Navarro F, Calvo J, Canton R, Fernandez-Cuenca F, Mirelis B. [Detection of resistance phenotypes in gram-negative bacteria]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011 Aug-Sep;29(7):524-34.
28. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2007 Jul;20(3):440-58.
29. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis*. 2011 Oct;17(10):1791-8.

30. Juan Nicolau C, Oliver A. [Carbapenemases in *Pseudomonas* spp]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010 Jan;28 Suppl 1:19-28.
31. Gautier G, Guillard T, Podac B, Bercot B, Vernet-Garnier V, de Champs C. Detection of different classes of carbapenemases: Adaptation and assessment of a phenotypic method applied to Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*, and proposal of a new algorithm. *J Microbiol Methods*. 2018 Apr;147:26-35.
32. Patel G, Bonomo RA. "Stormy waters ahead": global emergence of carbapenemases. *Front Microbiol*. 2013;4:48.
33. Robledo IE, Aquino EE, Vazquez GJ. Detection of the KPC gene in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* during a PCR-based nosocomial surveillance study in Puerto Rico. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Jun;55(6):2968-70.
34. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev*. 2005 Apr;18(2):306-25.
35. Branas P, Gil M, Villa J, Orellana MA, Chaves F. Molecular epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae infection/colonisation in a hospital in Madrid. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2018 Feb;36(2):100-3.
36. Harper TM, June CM, Taracila MA, Bonomo RA, Powers RA, Leonard DA. Multiple substitutions lead to increased loop flexibility and expanded specificity in *Acinetobacter baumannii* carbapenemase OXA-239. *Biochem J*. 2018 Jan 11;475(1):273-88.
37. Pages JM, James CE, Winterhalter M. The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nat Rev Microbiol*. 2008 Dec;6(12):893-903.
38. Lopez-Camacho E, Gomez-Gil R, Tobes R, Manrique M, Lorenzo M, Galvan B, et al. Genomic analysis of the emergence and evolution of multidrug resistance during a *Klebsiella pneumoniae* outbreak including carbapenem and colistin resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2014 Mar;69(3):632-6.
39. Garcia-Fernandez A, Miriagou V, Papagiannitsis CC, Giordano A, Venditti M, Mancini C, et al. An ertapenem-resistant extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* clone carries a novel OmpK36 porin variant. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Oct;54(10):4178-84.
40. Yang YJ, Wu PJ, Livermore DM. Biochemical characterization of a beta-lactamase that hydrolyzes penems and carbapenems from two *Serratia marcescens* isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 1990 May;34(5):755-8.
41. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991 Jan;35(1):147-51.
42. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001 Apr;45(4):1151-61.



43. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis*. 2009 Apr;9(4):228-36.
44. Glasner C, Albiger B, Buist G, Tambic Andrasevic A, Canton R, Carmeli Y, et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. *Euro Surveill*. 2013 Jul 11;18(28).
45. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis*. 2013 Sep;13(9):785-96.
46. Ruiz-Garbajosa P, Curiao T, Tato M, Gijon D, Pintado V, Valverde A, et al. Multiclonal dispersal of KPC genes following the emergence of non-ST258 KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* clones in Madrid, Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2013 Nov;68(11):2487-92.
47. Lopez-Cerero L, Egea P, Gracia-Ahufinger I, Gonzalez-Padilla M, Rodriguez-Lopez F, Rodriguez-Bano J, et al. Characterisation of the first ongoing outbreak due to KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* (ST512) in Spain. *Int J Antimicrob Agents*. 2014 Dec;44(6):538-40.
48. Gupta N, Limbago BM, Patel JB, Kallen AJ. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention. *Clin Infect Dis*. 2011 Jul 1;53(1):60-7.
49. Zhao WH, Hu ZQ. Epidemiology and genetics of VIM-type metallo-beta-lactamases in Gram-negative bacilli. *Future Microbiol*. 2011 Mar;6(3):317-33.
50. Vatopoulos A. High rates of metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece--a review of the current evidence. *Euro Surveill*. 2008 Jan 24;13(4).
51. Kassis-Chikhani N, Decre D, Gautier V, Burghoffer B, Saliba F, Mathieu D, et al. First outbreak of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* carrying blaVIM-1 and blaSHV-5 in a French university hospital. *J Antimicrob Chemother*. 2006 Jan;57(1):142-5.
52. Tato M, Coque TM, Ruiz-Garbajosa P, Pintado V, Cobo J, Sader HS, et al. Complex clonal and plasmid epidemiology in the first outbreak of Enterobacteriaceae infection involving VIM-1 metallo-beta-lactamase in Spain: toward endemicity? *Clin Infect Dis*. 2007 Nov 01;45(9):1171-8.
53. Grundmann H, Livermore DM, Giske CG, Canton R, Rossolini GM, Campos J, et al. Carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Euro Surveill*. 2010 Nov 18;15(46).
54. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Dec;53(12):5046-54.
55. Livermore DM, Walsh TR, Toleman M, Woodford N. Balkan NDM-1: escape or transplant? *Lancet Infect Dis*. 2011 Mar;11(3):164.
56. Poirel L, Dortet L, Bernabeu S, Nordmann P. Genetic features of blaNDM-1-positive Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Nov;55(11):5403-7.

57. Bercot B, Poirel L, Dortet L, Nordmann P. In vitro evaluation of antibiotic synergy for NDM-1-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother.* 2011 Oct;66(10):2295-7.
58. Poirel L, Heritier C, Tolun V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004 Jan;48(1):15-22.
59. Martinez-Martinez L, Gonzalez-Lopez JJ. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: types and molecular epidemiology. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014 Dec;32 Suppl 4:4-9.
60. Tzouvelekis LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. *Clin Microbiol Rev.* 2012 Oct;25(4):682-707.
61. Carrer A, Poirel L, Yilmaz M, Akan OA, Feriha C, Cuzon G, et al. Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Mar;54(3):1369-73.
62. Oteo J, Calbo E, Rodriguez-Bano J, Oliver A, Hornero A, Ruiz-Garbajosa P, et al. [The threat of the carbapenemase-producing enterobacteriaceae in Spain: positioning report of the SEIMC study groups, GEIH and GEMARA]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014 Dec;32(10):666-70.
63. <antimicrobial-resistance-carbapenemase-producing-bacteria-europe.pdf>.
64. Oteo J, Saez D, Bautista V, Fernandez-Romero S, Hernandez-Molina JM, Perez-Vazquez M, et al. Carbapenemase-producing enterobacteriaceae in Spain in 2012. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Dec;57(12):6344-7.
65. Tortola MT, Lavilla S, Miro E, Gonzalez JJ, Larrosa N, Sabate M, et al. First detection of a carbapenem-hydrolyzing metalloenzyme in two enterobacteriaceae isolates in Spain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005 Aug;49(8):3492-4.
66. Oteo J, Ortega A, Bartolome R, Bou G, Conejo C, Fernandez-Martinez M, et al. Prospective multicenter study of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from 83 hospitals in Spain reveals high in vitro susceptibility to colistin and meropenem. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(6):3406-12.
67. Curiao T, Morosini MI, Ruiz-Garbajosa P, Robustillo A, Baquero F, Coque TM, et al. Emergence of bla KPC-3-Tn4401a associated with a pKPN3/4-like plasmid within ST384 and ST388 *Klebsiella pneumoniae* clones in Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2010 Aug;65(8):1608-14.
68. Feldman N, Adler A, Molshatzki N, Navon-Venezia S, Khabra E, Cohen D, et al. Gastrointestinal colonization by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* following hospital discharge: duration of carriage and risk factors for persistent carriage. *Clin Microbiol Infect.* 2013 Apr;19(4):E190-6.
69. Tumbarello M, Trecarichi EM, Tumietto F, Del Bono V, De Rosa FG, Bassetti M, et al. Predictive models for identification of hospitalized patients harboring KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Jun;58(6):3514-20.

70. Schwaber MJ, Klarfeld-Lidji S, Navon-Venezia S, Schwartz D, Leavitt A, Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 Mar;52(3):1028-33.
71. Borer A, Saidel-Odes L, Eskira S, Nativ R, Riesenber K, Livshiz-Riven I, et al. Risk factors for developing clinical infection with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospital patients initially only colonized with carbapenem-resistant *K pneumoniae*. *Am J Infect Control*. 2012 Jun;40(5):421-5.
72. Schechner V, Kotlovsky T, Kazma M, Mishali H, Schwartz D, Navon-Venezia S, et al. Asymptomatic rectal carriage of blaKPC producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: who is prone to become clinically infected? *Clin Microbiol Infect*. 2013 May;19(5):451-6.
73. Zarkotou O, Pournaras S, Tselioti P, Dragoumanos V, Pitiriga V, Ranellou K, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. *Clin Microbiol Infect*. 2011 Dec;17(12):1798-803.
74. Daikos GL, Petrikos P, Psychogiou M, Kosmidis C, Vryonis E, Skoutelis A, et al. Prospective observational study of the impact of VIM-1 metallo-beta-lactamase on the outcome of patients with *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 May;53(5):1868-73.
75. Souli M, Galani I, Antoniadou A, Papadomichelakis E, Poulakou G, Panagea T, et al. An outbreak of infection due to beta-Lactamase *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Clin Infect Dis*. 2010 Feb 01;50(3):364-73.
76. Nguyen M, Eschenauer GA, Bryan M, O'Neil K, Furuya EY, Della-Latta P, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: factors correlated with clinical and microbiologic outcomes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2010 Jun;67(2):180-4.
77. Falagas ME, Tansarli GS, Karageorgopoulos DE, Vardakas KZ. Deaths attributable to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Emerg Infect Dis*. 2014 Jul;20(7):1170-5.
78. Fraenkel-Wandel Y, Raveh-Brawer D, Wiener-Well Y, Yinnon AM, Assous MV. Mortality due to blaKPC *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother*. 2016 Apr;71(4):1083-7.
79. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Trecarichi EM, Tumietto F, Marchese A, et al. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin Infect Dis*. 2012 Oct;55(7):943-50.
80. Qureshi ZA, Paterson DL, Potoski BA, Kilayko MC, Sandovsky G, Sordillo E, et al. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: superiority of combination antimicrobial regimens. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012 Apr;56(4):2108-13.

81. Daikos GL, Tsaousi S, Tzouveleakis LS, Anyfantis I, Psychogiou M, Argyropoulou A, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(4):2322-8.
82. Palacios-Baena ZR, Oteo J, Conejo C, Larrosa MN, Bou G, Fernandez-Martinez M, et al. Comprehensive clinical and epidemiological assessment of colonisation and infection due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Spain. *J Infect.* 2016 Feb;72(2):152-60.
83. Lee CR, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, Lee SH. Global Dissemination of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, Genetic Context, Treatment Options, and Detection Methods. *Front Microbiol.* 2016;7:895.
84. Paul M, Carmeli Y, Durante-Mangoni E, Mouton JW, Tacconelli E, Theuretzbacher U, et al. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2014 Sep;69(9):2305-9.
85. Gomez-Simmonds A, Nelson B, Eiras DP, Loo A, Jenkins SG, Whittier S, et al. Combination Regimens for Treatment of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016 Jun;60(6):3601-7.
86. Rodriguez-Bano J, Cisneros JM, Cobos-Trigueros N, Fresco G, Navarro-San Francisco C, Gudiol C, et al. Diagnosis and antimicrobial treatment of invasive infections due to multidrug-resistant Enterobacteriaceae. Guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2015 May;33(5):337 e1- e21.
87. Shields RK, Clancy CJ, Press EG, Nguyen MH. Aminoglycosides for Treatment of Bacteremia Due to Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016 May;60(5):3187-92.
88. Livermore DM, Warner M, Mushtaq S, Doumith M, Zhang J, Woodford N. What remains against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae? Evaluation of chloramphenicol, ciprofloxacin, colistin, fosfomicin, minocycline, nitrofurantoin, temocillin and tigecycline. *Int J Antimicrob Agents.* 2011 May;37(5):415-9.
89. Alexander BT, Marschall J, Tibbetts RJ, Neuner EA, Dunne WM, Jr., Ritchie DJ. Treatment and clinical outcomes of urinary tract infections caused by KPC-producing Enterobacteriaceae in a retrospective cohort. *Clin Ther.* 2012 Jun;34(6):1314-23.
90. Jernigan MG, Press EG, Nguyen MH, Clancy CJ, Shields RK. The combination of doripenem and colistin is bactericidal and synergistic against colistin-resistant, carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Jun;56(6):3395-8.
91. Falagas ME, Lourida P, Poulidakos P, Rafailidis PI, Tansarli GS. Antibiotic treatment of infections due to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: systematic evaluation of the available evidence. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(2):654-63.
92. Gutierrez-Gutierrez B, Salamanca E, de Cueto M, Hsueh PR, Viale P, Pano-Pardo JR, et al. Effect of appropriate combination therapy on mortality of patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (INCREMENT): a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2017 Jul;17(7):726-34.

93. Ceccarelli G, Falcone M, Giordano A, Mezzatesta ML, Caio C, Stefani S, et al. Successful ertapenem-doripenem combination treatment of bacteremic ventilator-associated pneumonia due to colistin-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Jun;57(6):2900-1.
94. Tangden T, Giske CG. Global dissemination of extensively drug-resistant carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: clinical perspectives on detection, treatment and infection control. *J Intern Med*. 2015 May;277(5):501-12.
95. Camargo JF, Simkins J, Beduschi T, Tekin A, Aragon L, Perez-Cardona A, et al. Successful Treatment of Carbapenemase-Producing Pandrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Oct;59(10):5903-8.
96. Dalfino L, Puntillo F, Mosca A, Monno R, Spada ML, Coppolecchia S, et al. High-dose, extended-interval colistin administration in critically ill patients: is this the right dosing strategy? A preliminary study. *Clin Infect Dis*. 2012 Jun;54(12):1720-6.
97. Daikos GL, Skiada A, Pavleas J, Vafiadi C, Salatas K, Tofas P, et al. Serum bactericidal activity of three different dosing regimens of colistin with implications for optimum clinical use. *J Chemother*. 2010 Jun;22(3):175-8.
98. Petrosillo N, Giannella M, Antonelli M, Antonini M, Barsic B, Belancic L, et al. Clinical experience of colistin-glycopeptide combination in critically ill patients infected with Gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(2):851-8.
99. Rodriguez-Bano J, Gutierrez-Gutierrez B, Machuca I, Pascual A. Treatment of Infections Caused by Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev*. 2018 Apr;31(2).
100. Kelesidis T, Karageorgopoulos DE, Kelesidis I, Falagas ME. Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant Enterobacteriaceae: a systematic review of the evidence from microbiological and clinical studies. *J Antimicrob Chemother*. 2008 Nov;62(5):895-904.
101. Tasina E, Haidich AB, Kokkali S, Arvanitidou M. Efficacy and safety of tigecycline for the treatment of infectious diseases: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2011 Nov;11(11):834-44.
102. Yahav D, Lador A, Paul M, Leibovici L. Efficacy and safety of tigecycline: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2011 Sep;66(9):1963-71.
103. Ramirez J, Dartois N, Gandjini H, Yan JL, Korth-Bradley J, McGovern PC. Randomized phase 2 trial to evaluate the clinical efficacy of two high-dosage tigecycline regimens versus imipenem-cilastatin for treatment of hospital-acquired pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Apr;57(4):1756-62.
104. Souli M, Galani I, Boukovalas S, Gourgoulis MG, Chryssouli Z, Kanellakopoulou K, et al. In vitro interactions of antimicrobial combinations with fosfomicin against KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* and protection of resistance development. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 May;55(5):2395-7.
105. Falagas ME, Giannopoulou KP, Kokolakis GN, Rafailidis PI. Fosfomicin: use beyond urinary tract and gastrointestinal infections. *Clin Infect Dis*. 2008 Apr 01;46(7):1069-77.

106. Karageorgopoulos DE, Miriagou V, Tzouveleki LS, Spyridopoulou K, Daikos GL. Emergence of resistance to fosfomycin used as adjunct therapy in KPC *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia: report of three cases. *J Antimicrob Chemother.* 2012 Nov;67(11):2777-9.
107. Vidal L, Gafter-Gvili A, Borok S, Fraser A, Leibovici L, Paul M. Efficacy and safety of aminoglycoside monotherapy: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Antimicrob Chemother.* 2007 Aug;60(2):247-57.
108. Samonis G, Maraki S, Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Falagas ME. Synergy of fosfomycin with carbapenems, colistin, netilmicin, and tigecycline against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012 May;31(5):695-701.
109. Le J, McKee B, Srisupha-Olarn W, Burgess DS. In vitro activity of carbapenems alone and in combination with amikacin against KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Clin Med Res.* 2011 May 19;3(3):106-10.
110. Rodriguez-Bano J, Cisneros JM, Gudiol C, Martinez JA. Treatment of infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014 Dec;32 Suppl 4:49-55.
111. Doi Y, Wachino JI, Arakawa Y. Aminoglycoside Resistance: The Emergence of Acquired 16S Ribosomal RNA Methyltransferases. *Infect Dis Clin North Am.* 2016 Jun;30(2):523-37.
112. Shields RK, Nguyen MH, Chen L, Press EG, Potoski BA, Marini RV, et al. Ceftazidime-Avibactam Is Superior to Other Treatment Regimens against Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017 Aug;61(8).
113. Bellais S, Mimoz O, Leotard S, Jacolot A, Petitjean O, Nordmann P. Efficacy of beta-lactams for treating experimentally induced pneumonia due to a carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamase-producing strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002 Jun;46(6):2032-4.
114. Antoniadou A, Kontopidou F, Poulakou G, Koratzanis E, Galani I, Papadomichelakis E, et al. Colistin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* emerging in intensive care unit patients: first report of a multiclonal cluster. *J Antimicrob Chemother.* 2007 Apr;59(4):786-90.
115. Lee J, Patel G, Huprikar S, Calfee DP, Jenkins SG. Decreased susceptibility to polymyxin B during treatment for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection. *J Clin Microbiol.* 2009 May;47(5):1611-2.
116. Rojas LJ, Salim M, Cober E, Richter SS, Perez F, Salata RA, et al. Colistin Resistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: Laboratory Detection and Impact on Mortality. *Clin Infect Dis.* 2017 Mar 15;64(6):711-8.
117. Yu H, Qu F, Shan B, Huang B, Jia W, Chen C, et al. Detection of the mcr-1 Colistin Resistance Gene in Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae from Different Hospitals in China. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016 Aug;60(8):5033-5.
118. Falagas ME, Mavroudis AD, Vardakas KZ. The antibiotic pipeline for multi-drug resistant gram negative bacteria: what can we expect? *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2016 Aug;14(8):747-63.

119. Lucasti C, Vasile L, Sandesc D, Venskutonis D, McLeroth P, Lala M, et al. Phase 2, Dose-Ranging Study of Relebactam with Imipenem-Cilastatin in Subjects with Complicated Intra-abdominal Infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016 Oct;60(10):6234-43.
120. Choi JJ, McCarthy MW. Cefiderocol: a novel siderophore cephalosporin. *Expert Opin Investig Drugs*. 2018 Feb;27(2):193-7.
121. Qureshi ZA, Syed A, Clarke LG, Doi Y, Shields RK. Epidemiology and clinical outcomes of patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteriuria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014 Jun;58(6):3100-4.
122. <Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-second Informational Supplement M100-S22. 2012.pdf>.
123. <Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twentieth Informational Supplement M100-S20-U. 2011.pdf>.
124. <European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoints tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 3.1. 2013.pdf>.
125. <FDA. Tygacil (Tygeciline) for Injection (package Insert)2005. Available from: <http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfdadocs/label/2010/021821s021.pdf>>.
126. Lee MF, Peng CF, Hsu HJ, Chen YH. Molecular characterisation of the metallo-beta-lactamase genes in imipenem-resistant Gram-negative bacteria from a university hospital in southern Taiwan. *Int J Antimicrob Agents*. 2008 Dec;32(6):475-80.
127. Tumbarello M, Trecarichi EM, De Rosa FG, Giannella M, Giacobbe DR, Bassetti M, et al. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. *J Antimicrob Chemother*. 2015 Jul;70(7):2133-43.
128. Ben-David D, Maor Y, Keller N, Regev-Yochay G, Tal I, Shachar D, et al. Potential role of active surveillance in the control of a hospital-wide outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010 Jun;31(6):620-6.
129. Ciobotaro P, Oved M, Nadir E, Bardenstein R, Zimhony O. An effective intervention to limit the spread of an epidemic carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an acute care setting: from theory to practice. *Am J Infect Control*. 2011 Oct;39(8):671-7.
130. Landman D, Babu E, Shah N, Kelly P, Olawole O, Backer M, et al. Transmission of carbapenem-resistant pathogens in New York City hospitals: progress and frustration. *J Antimicrob Chemother*. 2012 Jun;67(6):1427-31.
131. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis*. 2008 Mar;8(3):159-66.
132. Pano Pardo JR, Serrano Villar S, Ramos Ramos JC, Pintado V. Infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: risk factors, clinical features and prognosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014 Dec;32 Suppl 4:41-8.

133. Pano-Pardo JR, Lopez Quintana B, Lazaro Perona F, Ruiz Carrascoso G, Romero-Gomez MP, Loeches Yague B, et al. Community-Onset Bloodstream and Other Infections, Caused by Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae: Epidemiological, Microbiological, and Clinical Features. *Open Forum Infect Dis*. 2016 Sep;3(3).
134. Gottig S, Gruber TM, Stecher B, Wichelhaus TA, Kempf VA. In vivo horizontal gene transfer of the carbapenemase OXA-48 during a nosocomial outbreak. *Clin Infect Dis*. 2015 Jun 15;60(12):1808-15.
135. Conlan S, Park M, Deming C, Thomas PJ, Young AC, Coleman H, et al. Plasmid Dynamics in KPC-Positive *Klebsiella pneumoniae* during Long-Term Patient Colonization. *MBio*. 2016 Jun 28;7(3).
136. Oteo J, Alcaraz R, Bou G, Conejo C, Diaz-Lamas AM, Fernandez-Martinez M, et al. Rates of faecal colonization by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae among patients admitted to ICUs in Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2015 Oct;70(10):2916-8.
137. Kotsanas D, Wijesooriya WR, Korman TM, Gillespie EE, Wright L, Snook K, et al. "Down the drain": carbapenem-resistant bacteria in intensive care unit patients and handwashing sinks. *Med J Aust*. 2013 Mar 18;198(5):267-9.
138. Vergara-Lopez S, Dominguez MC, Conejo MC, Pascual A, Rodriguez-Bano J. Wastewater drainage system as an occult reservoir in a protracted clonal outbreak due to metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella oxytoca*. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Nov;19(11):E490-8.
139. Satlin MJ, Chen L, Patel G, Gomez-Simmonds A, Weston G, Kim AC, et al. Multicenter Clinical and Molecular Epidemiological Analysis of Bacteremia Due to Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE) in the CRE Epicenter of the United States. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017 Apr;61(4).
140. Trecarichi EM, Cauda R, Tumbarello M. Detecting risk and predicting patient mortality in patients with extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae bloodstream infections. *Future Microbiol*. 2012 Oct;7(10):1173-89.
141. Borer A, Saidel-Odes L, Riesenber K, Eskira S, Peled N, Nativ R, et al. Attributable mortality rate for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009 Oct;30(10):972-6.
142. Papadimitriou-Olivgeris M, Marangos M, Fligou F, Christofidou M, Bartzavali C, Anastassiou ED, et al. Risk factors for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* enteric colonization upon ICU admission. *J Antimicrob Chemother*. 2012 Dec;67(12):2976-81.
143. Madueno A, Gonzalez Garcia J, Ramos MJ, Pedroso Y, Diaz Z, Oteo J, et al. Risk factors associated with carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* fecal carriage: A case-control study in a Spanish tertiary care hospital. *Am J Infect Control*. 2017 Jan 1;45(1):77-9.
144. Zarakolu P, Eser OK, Aladag E, Al-Zahrani IA, Day KM, Atmaca O, et al. Epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* colonization: a surveillance study at a Turkish university hospital from 2009 to 2013. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016 Aug;85(4):466-70.



145. Daikos GL, Vryonis E, Psychogiou M, Tzouveleki LS, Liatis S, Petrikos P, et al. Risk factors for bloodstream infection with *Klebsiella pneumoniae* producing VIM-1 metallo-beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother*. 2010 Apr;65(4):784-8.
146. Gasink LB, Edelstein PH, Lautenbach E, Synnestvedt M, Fishman NO. Risk factors and clinical impact of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009 Dec;30(12):1180-5.
147. Jeon MH, Choi SH, Kwak YG, Chung JW, Lee SO, Jeong JY, et al. Risk factors for the acquisition of carbapenem-resistant *Escherichia coli* among hospitalized patients. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008 Dec;62(4):402-6.
148. Hussein K, Sprecher H, Mashiach T, Oren I, Kassis I, Finkelstein R. Carbapenem resistance among *Klebsiella pneumoniae* isolates: risk factors, molecular characteristics, and susceptibility patterns. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009 Jul;30(7):666-71.
149. Wiener-Well Y, Rudensky B, Yinnon AM, Kopuit P, Schlesinger Y, Broide E, et al. Carriage rate of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospitalised patients during a national outbreak. *J Hosp Infect*. 2010 Apr;74(4):344-9.
150. Pamer EG. Resurrecting the intestinal microbiota to combat antibiotic-resistant pathogens. *Science*. 2016 Apr 29;352(6285):535-8.
151. Patel N, Harrington S, Dihmess A, Woo B, Masoud R, Martis P, et al. Clinical epidemiology of carbapenem-intermediate or -resistant Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*. 2011 Jul;66(7):1600-8.
152. Gottesman T, Agmon O, Shwartz O, Dan M. Household transmission of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Emerg Infect Dis*. 2008 May;14(5):859-60.
153. Stolle I, Prenger-Berninghoff E, Stamm I, Scheufen S, Hassdenteufel E, Guenther S, et al. Emergence of OXA-48 carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in dogs. *J Antimicrob Chemother*. 2013 Dec;68(12):2802-8.
154. Galler H, Feierl G, Petternel C, Reinthaler FF, Haas D, Grisold AJ, et al. KPC-2 and OXA-48 carbapenemase-harboring Enterobacteriaceae detected in an Austrian wastewater treatment plant. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Feb;20(2):O132-4.
155. Zurfluh K, Poirel L, Nordmann P, Klumpp J, Stephan R. First detection of *Klebsiella variicola* producing OXA-181 carbapenemase in fresh vegetable imported from Asia to Switzerland. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2015;4:38.
156. Coelho A, Piedra-Carrasco N, Bartolome R, Quintero-Zarate JN, Larrosa N, Cornejo-Sanchez T, et al. Role of IncHI2 plasmids harbouring blaVIM-1, blaCTX-M-9, aac(6')-Ib and qnrA genes in the spread of multiresistant *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae* strains in different units at Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain. *Int J Antimicrob Agents*. 2012 Jun;39(6):514-7.
157. Toval F, Kohler CD, Vogel U, Wagenlehner F, Mellmann A, Fruth A, et al. Characterization of *Escherichia coli* isolates from hospital inpatients or outpatients with urinary tract infection. *J Clin Microbiol*. 2014 Feb;52(2):407-18.

158. Pitart C, Sole M, Roca I, Fabrega A, Vila J, Marco F. First outbreak of a plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing OXA-48 beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Sep;55(9):4398-401.
159. Pano-Pardo JR, Ruiz-Carrascoso G, Navarro-San Francisco C, Gomez-Gil R, Mora-Rillo M, Romero-Gomez MP, et al. Infections caused by OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary hospital in Spain in the setting of a prolonged, hospital-wide outbreak. *J Antimicrob Chemother*. 2013 Jan;68(1):89-96.
160. Oteo J, Hernandez JM, Espasa M, Fleites A, Saez D, Bautista V, et al. Emergence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* and the novel carbapenemases OXA-244 and OXA-245 in Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2013 Feb;68(2):317-21.
161. Robustillo Rodela A, Diaz-Agero Perez C, Sanchez Sagrado T, Ruiz-Garbajosa P, Pita Lopez MJ, Monge V. Emergence and outbreak of carbapenemase-producing KPC-3 *Klebsiella pneumoniae* in Spain, September 2009 to February 2010: control measures. *Euro Surveill*. 2012 Feb 16;17(7).
162. Pena I, Picazo JJ, Rodriguez-Avial C, Rodriguez-Avial I. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in a tertiary hospital in Madrid, Spain: high percentage of colistin resistance among VIM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* ST11 isolates. *Int J Antimicrob Agents*. 2014 May;43(5):460-4.
163. Satlin MJ, Kubin CJ, Blumenthal JS, Cohen AB, Furuya EY, Wilson SJ, et al. Comparative effectiveness of aminoglycosides, polymyxin B, and tigecycline for clearance of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from urine. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Dec;55(12):5893-9.
164. Sader HS, Castanheira M, Flamm RK, Mendes RE, Farrell DJ, Jones RN. Tigecycline activity tested against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from 18 European nations: results from the SENTRY surveillance program (2010-2013). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015 Oct;83(2):183-6.
165. De Pascale G, Montini L, Pennisi M, Bernini V, Maviglia R, Bello G, et al. High dose tigecycline in critically ill patients with severe infections due to multidrug-resistant bacteria. *Crit Care*. 2014 May 5;18(3):R90.
166. Navarro-San Francisco C, Mora-Rillo M, Romero-Gomez MP, Moreno-Ramos F, Rico-Nieto A, Ruiz-Carrascoso G, et al. Bacteraemia due to OXA-48-carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a major clinical challenge. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Feb;19(2):E72-9.
167. Nation RL, Velkov T, Li J. Colistin and polymyxin B: peas in a pod, or chalk and cheese? *Clin Infect Dis*. 2014 Jul 1;59(1):88-94.
168. Dudhani RV, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW, Rayner CR, Li J, et al. Elucidation of the pharmacokinetic/pharmacodynamic determinant of colistin activity against *Pseudomonas aeruginosa* in murine thigh and lung infection models. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Mar;54(3):1117-24.
169. Spellberg B. The New Antibiotic Mantra-"Shorter Is Better". *JAMA Intern Med*. 2016 Sep 1;176(9):1254-5.

170. Zusman O, Avni T, Leibovici L, Adler A, Friberg L, Stergiopoulou T, et al. Systematic review and meta-analysis of in vitro synergy of polymyxins and carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Oct;57(10):5104-11.
171. Poudyal A, Howden BP, Bell JM, Gao W, Owen RJ, Turnidge JD, et al. In vitro pharmacodynamics of colistin against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2008 Dec;62(6):1311-8.
172. Matthaiou DK, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Karageorgopoulos DE, Papaioannou V, Ntani G, et al. Risk factors associated with the isolation of colistin-resistant gram-negative bacteria: a matched case-control study. *Crit Care Med*. 2008 Mar;36(3):807-11.
173. Samonis G, Matthaiou DK, Kofteridis D, Maraki S, Falagas ME. In vitro susceptibility to various antibiotics of colistin-resistant gram-negative bacterial isolates in a general tertiary hospital in Crete, Greece. *Clin Infect Dis*. 2010 Jun 15;50(12):1689-91.
174. Zavascki AP, Klee BO, Bulitta JB. Aminoglycosides against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the critically ill: the pitfalls of aminoglycoside susceptibility. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2017 Jun;15(6):519-26.
175. Pigrau C. [Nocosomial urinary tract infections]. *Enferm Infec Microbiol Clin*. 2013 Nov;31(9):614-24.
176. Shilo S, Assous MV, Lachish T, Kopuit P, Bdolah-Abram T, Yinnon AM, et al. Risk factors for bacteriuria with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and its impact on mortality: a case-control study. *Infection*. 2013 Apr;41(2):503-9.
177. Paterson DL, Doi Y. A step closer to extreme drug resistance (XDR) in gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis*. 2007 Nov 1;45(9):1179-81.
178. Kritsotakis EI, Tsioutis C, Roubelaki M, Christidou A, Gikas A. Antibiotic use and the risk of carbapenem-resistant extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infection in hospitalized patients: results of a double case-control study. *J Antimicrob Chemother*. 2011 Jun;66(6):1383-91.
179. Tambyah PA, Maki DG. Catheter-associated urinary tract infection is rarely symptomatic: a prospective study of 1,497 catheterized patients. *Arch Intern Med*. 2000 Mar 13;160(5):678-82.
180. Meier S, Weber R, Zbinden R, Ruef C, Hasse B. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Gram-negative pathogens in community-acquired urinary tract infections: an increasing challenge for antimicrobial therapy. *Infection*. 2011 Aug;39(4):333-40.
181. Sampson UKA, Fowkes FGR, Naidoo NG, Criqui MH. *Peripheral Artery Disease*. 2017 Nov 17.
182. Giani T, Conte V, Di Pilato V, Aschbacher R, Weber C, Larcher C, et al. *Escherichia coli* from Italy producing OXA-48 carbapenemase encoded by a novel Tn1999 transposon derivative. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012 Apr;56(4):2211-3.

183. Potron A, Poirel L, Nordmann P. Derepressed transfer properties leading to the efficient spread of the plasmid encoding carbapenemase OXA-48. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(1):467-71.

**ANEXO**

## Original

Laura López-González<sup>1</sup>  
Francisco Javier Candel<sup>1,3</sup>  
José Manuel Viñuela-Prieto<sup>1</sup>  
Juan María González-Del  
Castillo<sup>2,3</sup>  
Ana Belén García<sup>1</sup>  
Irene Pena<sup>1</sup>  
Iciar Rodríguez-Avial<sup>1</sup>

# Useful independent factors for distinguish infection and colonization in patients with urinary carbapenemase-producing Enterobacteriaceae isolation

<sup>1</sup>Clinical Microbiology Department, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain. Complutense University.

<sup>2</sup>Emergency Department, Hospital Universitario Clínico San Carlos, Madrid, Spain. Complutense University.

<sup>3</sup>Health Research Institute, Hospital Universitario San Carlos, Madrid, Spain.

## ABSTRACT

**Objective.** The aim of this study is to know epidemiologic and clinical differences among those patients colonized or infected by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) and develop a predictive model to facilitate the clinical approach concerning to start antimicrobial therapy.

**Methods.** Observational retrospective cohort study was performed involving all patients with Urine carbapenemase-producing Enterobacteriaceae isolation (UCPEI) between November 2013 and July 2015. Patients were classified as colonized or infected considering Center for Disease Control and Prevention (CDC) definition for urinary tract infection (UTI).

**Results.** A total of 72 patients were included, mean age 76.4 (IQR 23-99) years and 40 (55.6%) were women. Thirty-four (47.2%) were colonized and 38 (52.8%) met the criteria of UTI and were considered infected. The independent variables associated to infection were female sex, peripheral vascular disease, admission in medical ward, permanent urinary catheter carrier, previous antimicrobial therapy, and length of stay. Isolation of OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae behaved as a non UTI (colonization) factor in comparison with KPC or VIM CPE. The developed predictive model showed an area under the curve (AUC) of 0.901 (95% CI: 0.832-0.970;  $p < 0.001$ ).

**Conclusion.** The predictive model that includes all this factors has demonstrated a good accuracy for infection diagnosis in these patients, an important issue considering that establishing the diagnosis of infection is not always easy in the profile of patients in which a CPE is isolated.

**Key words:** Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, complicated urinary infection, colonization, urinary catheter, risk factors, therapy

Correspondence:  
Francisco Javier Candel MD PhD  
Department of Clinical Microbiology, Hospital Clínico San Carlos.  
Health Research Institute, Universidad Complutense.  
Avda. profesor Martín Lágos s/n. 28040 Madrid, Spain.  
Mail: fj.candel@gmail.com  
Phone: +34 91 330 3486

## Factores independientes útiles para distinguir colonización e infección en pacientes con aislamiento urinario de enterobacterias portadoras de carbapenemasas

## RESUMEN

**Objetivo.** El objetivo de este estudio es conocer las diferencias epidemiológicas y clínicas entre los pacientes colonizados e infectados por Enterobacterias productoras de carbapenemasa y desarrollar un modelo predictivo para facilitar el abordaje clínico para iniciar la terapia antimicrobiana.

**Métodos.** Estudio de cohorte retrospectivo observacional que incluyó a todos los pacientes con aislamiento de Enterobacterias productoras de carbapenemasa de la orina entre noviembre de 2013 y julio de 2015. Los pacientes fueron clasificados como colonizados o infectados considerando la definición de CDC para la infección del tracto urinario (UTI).

**Resultados.** Se incluyeron un total de 72 pacientes, con edad media de 76,4 años (IQR 23-99) y 40 (55,6%) mujeres. Treinta y cuatro (47,2%) fueron colonizados y 38 (52,8%) cumplieron con los criterios de UTI y se consideraron infectados. Las variables independientes asociadas a la infección fueron el sexo femenino, la enfermedad vascular periférica, el ingreso en una planta de medicina, el ser portador de catéter urinario permanente, haber recibido terapia antimicrobiana previa y una estancia media prolongada. El aislamiento de Enterobacterias productoras de carbapenemasa tipo OXA-48 se comportó como un factor de colonización en comparación con el aislamiento de KPC o VIM. El modelo predictivo desarrollado mostró un área bajo la curva (AUC) de 0,901 (IC del 95%: 0,832-0,970,  $p < 0,001$ ).

**Conclusión.** El modelo predictivo que incluye todos estos factores ha demostrado una buena precisión para el diagnóstico de infección en estos pacientes, una cuestión importante teniendo en cuenta que establecer el diagnóstico de infección

no siempre es fácil en el perfil clínico de los pacientes con aislamiento de una enterobacteria portadora de carbapenemasa.

**Palabras Clave:** Enterobacteria portadora de carbapenemasa, infección urinaria, colonización, sonda urinaria, factores de riesgo, tratamiento.

## INTRODUCTION

Urinary tract infection (UTI) is the most common health-care-associated infection. In our country, as the ECDC (*European Centre for Disease Prevention and Control*) showed in 2012, UTI represented 18.82% of all nosocomial infections<sup>1</sup>. Nosocomial UTI has been related to the presence of a urinary catheter in more than 80% of the cases, as long as with the duration and the permanent catheterization<sup>2</sup>. In patients undergoing multiple antibiotic treatments or admitted to a social-health centre, isolation of multiresistant gram-negative agents is frequent, such as extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae (ESBL) and AmpC  $\beta$ -lactamases<sup>3-5</sup>.

In the last 3 years, the CPE isolation has emerged in a wide range of infections, including UTI, hospital acquired pneumonia, intra-abdominal infections, and primary bacteremia<sup>6</sup>. The urine is the sample where the majority of CPE are isolated, such as *Klebsiella pneumoniae*, and displays different types of carbapenemases such as KPC (class A), VIM (class B) and OXA (class D). OXA-48 is by far the most common type of carbapenemase circulating in Spain<sup>5,7</sup>. CPE UTIs represents a growing nosocomial infection.

However, the isolation of a microorganism in urine does not necessarily imply the presence of infection and may simply be related to the status of been colonized. Deciding if a patient is infected or colonized is not always easy in patients with CPE isolation, since they are usually elderly, invasive devices carriers and with significant comorbidity. In this patient profile the clinical and analytical manifestations could be very inexpressive, which makes it difficult to decision-making regarding the initiation or not of antibiotic treatment. Several studies have evaluated the risk factors for infection caused by CPE such as previous antibiotic therapy, presence of an indwelling urinary catheter, surgery, procedures like cardiac catheterization and endoscopy, and admission to an ICU<sup>3</sup>. While lot is known regarding the risk factors for selecting a CPE, little is known to discern among colonization and infection.

Therefore, the aim of this study is to know if there is any different in the epidemiology and clinical characteristics between patients colonized and infected by CPE and develop a predictive model in order to help in the decision-making concerning antibiotic treatment.

## MATERIAL AND METHODS

**Study design.** An observational retrospective cohort study was performed involving all patients with UCPEI in a tertiary hospital between November 2013 and July 2015. Patients were identified through the Microbiology Department

database and only a single episode per patient, the first one, was considered during the study period. Study was approved by Ethical Committee in Hospital Clínico San Carlos.

**Patient selection.** Data were collected from the microbiology laboratory records of patients with UCPEI. Each patient was included only once, at the time of the first UCPEI from clinical samples, and was evaluated and classified either as infected (UTI) or colonized (asymptomatic bacteriuria). UTI was defined as the combination of a positive urine culture growing ( $\geq 10^5$  CFU/ml) of CPE and  $\geq 2$  of the following symptoms: urinary symptoms, fever without other demonstrable focus and / or pathological urine analysis (pyuria, leucocytes and nitrites)<sup>8</sup>.

**Study setting.** Hospital Clínico San Carlos is a tertiary, urban, teaching hospital, with an assigned area of approximately 500,000 patients in Madrid.

**Definition and collection of variables.** Clinical data were obtained by both fulfilling a clinical protocol and consulting medical records, demographic data (age and gender) and comorbidities (Charlson comorbidity index). Severity in comorbidity was defined as a Charlson index  $\geq 3$ . Risk factors considered selectors of multiresistant pathogens (CPE) were prior antibiotic or hospital admission, indwelling invasive devices, length of stay, type of admission ward, intraabdominal surgery, urological procedures, and selective bowel decontamination. Permanent urinary catheter were defined as urinary catheter with duration of more than 30 days, double J or Pig-tail catheter insertion.

Concerning previous antimicrobial therapy, type of antibiotic was also registered (penicillin, penicillin with penicillinase inhibitors, cephalosporines, carbapenems, and fluoroquinolones). It was defined if patients had taken 1 course of antibiotic therapy or more. The ecological impact derived from the usage of carbapenems, define as isolation of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* or *Stenotrophomonas maltophilia* within the previous two months, and ESBL-producing Enterobacteriaceae isolation within the previous 6 months of UCPEI were also registered.

A follow-up was carried out, by consulting the electronic clinical history, to determine length of hospital stay, antibiotic therapy administered after UTI and the 30-day and 90-day mortality after the index event. The variables were registered in an electronic data collection notebook. The dependent variable consisted on the classification of patients either as colonized or infected.

**Microbiological procedures.** Enterobacteriaceae strains recovered from urine with imipenem minimum inhibitory concentration (MICs)  $\geq 1$  mg/L were prospectively collected. Bacterial identification were performed using MALDI-TOF biotyper mass spectrometry (Bruker, Co), and antibiotic susceptibility testing using Wider® (Fco. Soria Melguizo, Madrid, Spain) or VITEK® (bioMérieux) systems. Imipenem MICs were confirmed by Etest (bioMérieux, Marcy l'Étoile, France). Isolates were categorized as susceptible or resistant to the antibiotics tested according to the interpretative criteria of the CLSI<sup>9</sup>. Breakpoints for tigecycline, fosfomicin and colistin were those of the Euro-

**Table 1** Characteristics of the patients based on the established classification of infected or colonized

VARIABLE	UTI	COLONIZED	OR (95% CI)	P value
Age (years) [76.4(29-99)]	81.5 (69-84)	80 (68-85)		0.756
Female sex [40 (55.6)]	25 (65.8)	15 (44.1)		0.065
<b>COMORBIDITY</b>				
Charlson Index $\leq$ 3 [48 (66.6)]	24 (63.2)	24 (70.6)	0.71 (0.26-1.92)	0.504
Diabetes without end-organ damage [10 (13.8)]	3 (7.9)	7 (20.6)	0.33 (0.07-1.39)	0,12
Diabetes with end-organ damage [8 (11.1)]	3 (7.9)	5 (15.2)	0.48 (0.10-2.18)	0,335
Moderate or severe renal disease [13(18)]	7 (18.4)	6 (17.6)	1.05 (0.31-3.51)	0,932
Myocardial infarction [8(11.1)]	4 (10.5)	4 (11.8)	0.88 (0.20-3.83)	0.867
Congestive heart failure [15(20.8)]	11 (28.9)	4 (11.8)	3.05 (0.86-10.73)	0.073
Peripheral vascular disease [13(18)]	5 (13.2)	8 (23.5)	0.49 (0.14-1.68)	0.253
Cerebrovascular disease [6(8.3)]	3 (7.9)	3 (8.8)	0.88 (0.16-4.71)	0.887
Hemiplegia [8(11.1)]	7 (18.4)	1 (2.9)	7.45 (0.86-64.09)	0.037
Connective tissue disease [4(5.5)]	2 (5.3)	2 (5.9)	0.88 (0.11-6.68)	0.909
Dementia [15(20.8)]	7 (18.4)	8 (23.5)	0.73 (0.34-2.29)	0.594
Chronic pulmonary disease[10(13.8)]	7 (18.4)	3 (8.8)	2.33 (0.55-9.86)	0.24
Moderate or severe liver disease [3(4.1)]	1 (2,6)	2 (5.9)	0.43 (0.03-4.99)	0.491
Mild liver disease [5(7)]	2 (5.3)	3 (8.8)	0.57 (0.90-3.66)	0.553
Peptic ulcer disease[3(4.1)]	2 (5.3)	1 (2.9)	1.83 (0.15-21.17)	0.623
Leukemia	0	0		
Lymphoma [3(4.1)]	2 (5.3)	1 (2.9)	1.83(0.15-21.17)	0.623
Tumor without metastasis [15(20.8)]	7 (18.4)	8 (23.5)	0.73 (0.23-2.29)	0.594
Metastatic solid tumor [8(11.1)]	6 (15.8)	2 (5.9)	3 (0.56-15.99)	0.182
AIDS	0	0		
<b>SITE OF ADMISSION</b>				
Medical ward [38(52.8)]	25 (65.8)	13 (38.2)	3.10 (1.18-8.13)	0.019
Surgical ward [19(26.4)]	7 (18.4)	12 (35.3)	0.41 (0.14-1.22)	0.105
Emergency room [4(8.6)]	2 (5.3)	2 (5.9)	0.88 (0.11-6.68)	0.909
Admission in ICU [11(15.2)]	4 (10.5)	7 (20.6)	0.45 (0.12-1.71)	0.236
<b>RISK FACTORS</b>				
SBD [14(19.4)]	7 (18.4)	7 (38.2)	0.36 (0.12-1.06)	0.061
Digestive endoscopy [21(29.1)]	12 (31.6)	9 (26.5)	1.28 (0.46-3.56)	0.634
Mechanical ventilation [19(26.4)]	9 (23.7)	10 (29.4)	0.74 (0.26-2.12)	0.583
Intraabdominal surgery [12(16.6)]	4 (13.2)	8 (23.5)	0.77 (0.30-1.97)	0,598
Urinary catheter [54(75)]	30 (78.9)	24 (70.6)	1.56 (0.53-5.57)	0.413
Permanent urinary catheter [10(13.9)]	8 (21.6)	2 (6.2)	4.13 (0.81-21.14)	0.070
Central venous catheter [25 (34.7)]	14 (36.8)	11 (32.4)	1.22 (0.46-3.23)	0.690

UTI: urinary tract infection; OR: odds ratio; CI: confidence interval; IQR: Interquartile range; UCPEI: Urine carbapenem-producing Enterobacteriaceae isolation; ICU: intensive care unit; SBD: Selective bowel decontamination; ESBL: extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae.

pean Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) for Enterobacteriaceae<sup>10</sup>.

Carbapenemase production was screened by the modified Hodge test (MHT). The presence of MBL was detected by the combined disk test with imipenem and EDTA (10  $\mu$ L, 100 mM), and the combined disk test with meropenem and phenylboronic acid (PBA) (10  $\mu$ L/ $\mu$ L, 40  $\mu$ g/ $\mu$ L) was used to screen for production of class A carbapenemases. All of the isolates in which carbapenemase production was detected were characterised by molecular methods. PCR was used for identification of the carbapenemase genes *blaKPC*, *blaVIM*, *blaIMP*, *blaNDM-1* and *blaOXA-48*<sup>11,12</sup>.

**Statistical analysis.** To analyse all variables between colonized and infected patients univariate analysis were carried out. The Student t and Mann-Whitney U tests were used to compare normally and non-normally distributed continuous variables, respectively. Comparison of proportions for categorical variables was performed by Fisher's exact test or chi-square test. Odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) were calculated for all valid associations. Multivariate logistic regression models (backward stepwise) were performed using the presence of infection as the dependent variable and including those significantly ( $p \leq 0.20$ ) associated in the univariate analysis as independent variables. To identify the variables independently associated with infection, a significance level of  $p \leq 0.05$  was considered. The power of the logistic regression model to discriminate between colonized and infected patients was expressed as the area under the receiver-operating characteristics curve (AUROC). The statistical analyses were performed using the statistical package SPSS 20.0 software (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).



**Table 1** Characteristics of the patients based on the established classification of infected or colonized (cont.)

VARIABLE	UTI	COLONIZED	OR (95% CI)	P value
<b>MICROBIOLOGICAL RESULTS</b>				
Length of stay to UCPEI (days) [22.21(0-96)]	21.5 (7-34)	15.5 (9-30)		0.520
Isolation of ESBL- producing bacteria [17(23.6)]	9 (23.7)	8 (23.5)	1 (0.33-2.99)	0.988
Carbapenem resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> [5(6.9)]	2 (5.3)	3 (8.8)	0.57 (0.90-3.66)	0.553
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> [2 (2.8)]	1 (2.6)	1 (2.9)	0.89 (0.54-14.83)	0.936
KPC [31 (43.1)]	17 (44.7)	14 (42.2)	1.15 (0.45-2.94)	0.761
VIM [10 (13.9)]	7 (18.4)	3 (8.8)	2.33 (0.55-9.86)	0.240
OXA [30 (41.7)]	13 (34.2)	17 (50)	0.52 (0.20-1.34)	0.175
<b>ANTIBIOTIC THERAPY</b>				
One full course of antibiotics [53(73.6%)]	31 (81.6)	22 (64.7)	2.41 (0.82-7.11)	0.105
Penicilin [3(4.1)]	0 (0)	3 (7.9)	0.39 (0.30-0.50)	0.036
Penicillin with penicillinase inhibitors [16(22.2)]	9 (16.7)	7 (18.4)	0.88 (0.29-2.63)	0.827
Cephalosporines [17(23.6)]	11 (20.4)	6 (15.8)	1.36 (0.45-4.07)	0.577
Carbapenems [31(43)]	20 (37)	11 (28.9)	1.44 (0.59-3.52)	0.419
Fluoroquinolones [25(34.7)]	14 (25.9)	11 (28.9)	0.85 (0.34-2.17)	0.748
<b>CLINICAL OUTCOME</b>				
Length of stay (days) [34.19(1-100)]	34.5 (21-53)	25.5 (13-41)		0.112
30-day-mortality [17(23.6)]	13 (34.2)	4 (11.8)	1.36 (0.45-4.07)	0.577
90-day-mortality [10(13.9)]	7 (18.4)	3 (8.8)	1.44 (0.59-3.52)	0.419

UTI: urinary tract infection; OR: odds ratio; CI: confidence interval; IQR: Interquartile range; UCPEI: Urine carbapenem-producing Enterobacteriaceae isolation; ICU: intensive care unit; SBD: Selective bowel decontamination; ESBL: extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae.

## RESULTS

Seventy-two patients with CPE isolates from urine samples were finally included. The mean age was 76.4 (IQR 23-99) years and 40 (55.6%) were women. Moreover, 38 (52.8%) isolates corresponded to patients hospitalized in medical wards, 19 (26.4%) to patients from surgical wards, 11 (15.2%) from the ICU, and 4 (8.6%) from the emergency room. Thirty-four (47.2%) patients were colonized and 38 (52.8%) met the criteria of UTI and were considered infected.

Concerning the evolution of the clinical processes, a total of 27 (37.5%) patients died, 17 (23.6%) of them within 30 days from admission and 10 (13.9%) within 90 days. After adjusted by comorbidity using the Charlson score, the mortality rate was higher among the patients admitted to medical wards than those admitted to surgical wards (13 of 38 vs 4 of 36;  $p=0.017$ ).

Our study showed that 24 (33.3%) patients had a Charlson index  $\geq 3$ . Among patients that had suffered instrumentalization, 54 (75%) an indwelling urinary catheter, 10 (13.9%) a permanent urinary catheter, 21 (29.1%) undergone digestive endoscopy, 12 (16.6%) intraabdominal surgery, and 3 (4.1%)

undergone urological procedures. Moreover, 14 (19.4%) patients received selective bowel decontamination, 19 (26.4%) underwent mechanical ventilation, and 25 (34.7%) bore central venous catheter. The median length of stay was 34.19 (IQR: 1-100) days. Mean time from admission to UCPEI was 22.21 (IQR: 0-96) days. Twenty-four (33.3%) patients had been admitted in the ICU, and the mean stay was 8.18 (IQR: 0-95) days.

Regarding the previous antibiotic therapy, 53 (73.6%) patients had received at least one full course of antibiotics, mainly with carbapenems [31 (43%) patients], followed by fluoroquinolones [25 (34.7%) patients], cephalosporines [17 (23.6%) patients], penicillin with penicillinase inhibitors [16 (22.2%) patients], and penicillins [3 (4.1%) patients]. ESBL-producing Enterobacteriaceae were isolated in 17 (23.6%) of patients within the previous 6 months to UCPEI, carbapenem-resistant *P. aeruginosa* in 5 (6.9%) and *S. maltophilia* in 2 (2.8%), both two last within the previous 2 months to UCPEI.

The most frequent antimicrobial treatments used were fosfomycin (23%), in combinations with extended infusion of meropenem (EIM) (18%), or tigecycline (12%) prescribed at high dose (100 mg twice a day).

**Microbiological results.** In relation to the isolated pathogens, 58 (80.6%) were *K. pneumoniae*, 2 (2.8%) *Klebsiella oxytoca*, 7 (9.7%) *Enterobacter cloacae*, 2 (2.8%) *Enterobacter aerogenes*, 2 (2.8%) *Serratia marcescens*, and 1 (1.4%) *Providencia stuartii*.

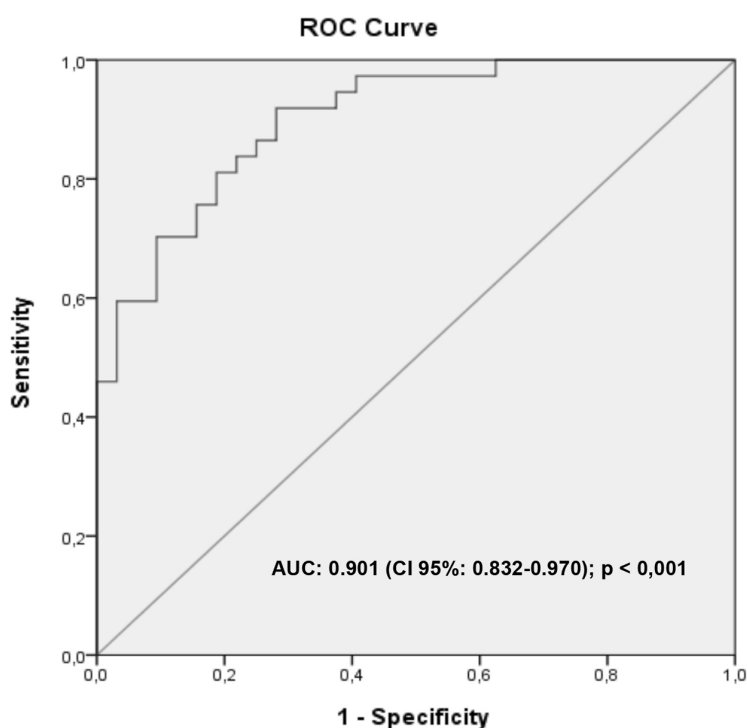
The genotyping testing characterized 31 (43.1%) isolates as positive for KPC, 30 (41.7%) isolates as OXA-48 enzyme, 10 (13.9%) as VIM, and 1 (2.1%) as KPC + VIM. About antimicrobial resistance, 70 (97.2%) isolates showed imipenem resistance, and in 37 (51.4%) isolates MICs were  $\leq 8$  mg/L. Ciprofloxacin resistance was found in 69 (95.8%) of the isolates. Twenty-four (33.3%) isolates were resistant to colistin, 32 (44.4%) to tigecycline, 26 (36.1%) to fosfomycin and 7 (9.7%) to amikacin.

**Infection and colonization.** Table 1 shows the characteristics of the patients and the univariate analyses based on the established classification of infected or colonized.

UTI was more frequent among women (62.5% vs 40.6%,

VARIABLE	OR (95% CI)	P value
Sex	8,595 (1,776-41,592)	0.007
Peripheral vascular disease	0.055 (0.006-0.5)	0.010
Medical ward admission	24,599 (2,605-232,260)	0.005
Permanent urinary catheter	41,216 (2,348-723,443)	0.011
One course of antibiotic	11,957 (1,752-81,604)	0.011
Length of stay	1,049 (1-1,101)	0.049
OXA-48	0.027 (0.002-0.355)	0.006

UCPEI: Urine carbapenem-producing Enterobacteriaceae isolation



**Figure 1** (a) ROC curve and area under curve (AUC) of the predictive model of infection in patients with patients with UCPEI.

ROC: Receiver-operating characteristics

UCPEI: Urine carbapenem-producing Enterobacteriaceae isolation

$p=0.065$ ) and patients with co-morbid conditions at the time of admission (58.5% vs 45.2%,  $p=0.260$ ). The percentage of patients presenting permanent urinary catheter was higher in infected than in those CPE carriers (80% vs 49.2%,  $p=0.07$ ). Infections were more frequent among medical wards (65.8% vs 38.2%,  $p=0.019$ ). The median hospital stay prior to culture collection (40.21 vs 32.35 days,  $p=0.112$ ) and prior antibiotic exposure rate was higher among patients with infection than

colonized (58.5% vs 36.8%,  $p=0.105$ ). Percentage of deaths was higher among infected patients than among colonized in the first 30 days (76.5% vs 45.5%,  $p=0.025$ ).

Table 2 shows the results of the multivariate analyses. The independent variables selected by the logistic regression model (Nagelkerke R-square = 0.607;  $p<0,001$ ), Hosmer Et Lemeshow:  $p= 0.966$ , AUC= 90.1%, associated to infection were sex, peripheral vascular disease, admission in medical ward, length of stay, permanent urinary catheter carrier, and previous antimicrobial therapy.

Isolate of OXA-48 behaved as a factor related to colonization, not to infection (table 2). The logistic regression model displayed a good predictive power, with an overall predictive accuracy of 90.1% (95% CI: 0.832-0.970;  $p < 0.001$ ) (figure 1).

## DISCUSSION

The present study has shown some risk factors independently associated with infection in patients with UCPEI like permanent urinary catheter, female gender, prior antibiotic exposure, medical ward admission, length of stay and peripheral vascular disease. OXA-48 producing Enterobacteriaceae isolation was related to colonization, not to infection. The predictive model that includes all these elements has demonstrated a good accuracy for infection diagnosis in these patients.

Firstly, most of studies published about describing risk factors associated to UCPEI, without assessing its clinical signification<sup>6-8,10</sup>. Second, to differentiate colonization from an infection in some clinical profiles is difficult. Frequently these patients have important comorbidities, are immunosuppressed or elderly, factors that can induce atypical clinical manifestations hindering the initial approach. Thirdly, it is well known that early and appropriate treatment has been associated to a better clinical outcomes, both in survival and reduction of health costs, especially but not only, in those patients with worse clinical course. On the other hand, there is a trend of broad-spectrum antimicrobial prescription in this kind of patients due to the complexity of their diagnosis, which can lead in over-cost and ecological impact as a result of unnecessary antibiotic use. Lastly, the treatment of these infections usually requires high doses of antimicrobials, which could increase risks of toxicity<sup>13,14</sup>. Therefore, we need tools to help us in clinical decisions, especially in those patients on which clinical or analytical signs are not enough suggestive of infection, to start antimicrobial therapy in those having these factors, which are independently associated with a higher risk of UTI.

UTI by multidrug-resistant microorganisms are frequently related to the presence of permanent urological devices (catheter, pig-tail, double J), because an adequate environment is generated, favoured by the antibiotic pressure in which the physiological mechanisms of urinary clearance are also avoided. This situation of antibiotic pressure favours selection of resistant strains capable of transferring this resistance to other Enterobacteriaceae in mobile genetic elements. Sometimes this situation also occurs favoured by cross-transmission by hands of health personnel<sup>2,15,16</sup>. In our serie, permanent catheterization had statistical significance as a risk factor for developing CPE UTI and the duration of catheterization was the most important risk factor in any kind of UTI. These data have already been communicated<sup>2,8,15</sup>. Given the difficulty in establishing a diagnosis of UTI in patients with permanent urinary catheter, because of the non-specific symptoms, after UCPEI in patients with permanent urinary devices who have fever and/or leucocytosis, antimicrobial therapy may be justified in the absence of another infectious foci<sup>17,18</sup>. Therefore, it is of great importance for clinicians to consider daily the need of keeping the urinary catheter, in order to avoid unnecessary antibiotic over-treatment and to prevent transferring of resistance genes in these clinical reservoirs. Lastly, any broad-spectrum antibiotic, not only carbapenems, can contribute to CPE selection<sup>5,17</sup> and in our population studied, the majority of patients with CPE UTI had received antibiotic treatment with  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor combinations, fluoroquinolones or carbapenems. Thus, the urinary catheterization, especially in female (because of the anatomic proximity to the rectum), and in elderly patients (who are frequently comorbid) with previous antimicrobial treatment and admission in medical wards were main predisposing combination to suffer a CPE UTI<sup>3,6,9</sup>.

From a microbiological point of view, isolation of an OXA-48-producing Enterobacteriaceae in the urine samples of our hospitals is becoming increasingly frequent, often among patients without symptoms. This could be due to the efficient dissemination of the *bla*OXA-48 gene among the faecal flora of our hospitalized patients facilitating a high rate of colonization that leads to an increased dispersion of this enzyme producing a complex epidemiological situation with a high number of colonized individuals<sup>7,19</sup>. The *bla*OXA-48 gene is housed in a conjugated plasmid whose gene encodes a protein that inhibits bacterial conjugation, which leads to an increase in the frequency of plasmid conjugation and efficient dissemination of the *bla*OXA-48 gene<sup>20</sup>. This may be probably the key factor for the successful diffusion of this plasmid<sup>21,22</sup>. Although there are no differences in virulence between the different species of CPE, our results showed that OXA-48 was more frequently associated with the non-infection (colonization) group.

Majority of isolates corresponded to *K. pneumoniae*, most of which expressed KPC and OXA-48. There has been an epidemiological change with respect to CPE in our hospital, being KPC and VIM predominant from 2010 to 2012<sup>23</sup>, KPC and OXA during the present study analysis period (2013-2015), emerging OXA-48 from 2015 to present time, as it has been the case in other hospitals in the country<sup>24</sup>. In recent years, outbreaks

of KPC-producing strains have been reported in some Spanish hospitals presenting limited therapeutic alternatives<sup>25,26</sup> and new molecules such as ceftazidime-avibactam have already been used in some cases with good results. This new therapeutic option, ceftazidime-avibactam, is highly active against CPE class A, has variability in activity against CPE Class D and none against those harbouring metalloenzymes (Class B)<sup>27</sup>. To complicate this therapeutic scenario, new mechanisms of resistance to colistin have recently been reported such as the horizontal transfer of the *mcr-1* gene<sup>28</sup>.

These reduced susceptibility profiles have therapeutic implications. Thus, combinations of meropenem in extended perfusion, high dose tigecycline and fosfomycin were the most chosen strategies, as reported another authors<sup>14,25</sup>. Although some of these therapeutic regimens are not standardized and have suboptimal pharmacokinetics in UTI, they were used because of therapeutic needs. Specifically in the case of tigecycline at high doses, with which hepatic toxicity has been described<sup>29</sup>, we observed in our treated patients an elevation of 3-5 times the value of the liver enzymes, but the withdrawal of the drug was not necessary. Similarly, withdrawal of colistin by standard dose toxicity of 4.5 million units twice daily in cycles of 5-7 days was not required either.

Given that the therapeutic complexity of infections caused by CPE is one of the most difficult challenges in current infectious diseases and due to its rapid spread through the hospitals, it is important to maximize infection control measures and optimize antibiotic policies<sup>30</sup>. Further studies are also needed to specify UTI risk factors after UCPEI that allow us to avoid unnecessary antibiotic treatments that favour the selection of resistant strains.

The present study has certain limitations. First, its retrospective nature may limit the application of some conclusions. Secondly, it is a unicentric study. Despite all of this, we can conclude that the present study emphasize the importance of the permanent urinary catheter, female gender, peripheral vascular disease, prior antibiotic exposure, medical ward admission and length of stay as clinically relevant risk factors to develop a CPE UTI, and can help in a decision-making not always easy.

## FUNDING

This study has been funded by grant PI13 / 01471 as part of the National R & D Plan, AES 2013 and co-funded by the ISCIII and the European Regional Development Fund (ERDF).

## CONFLICTS OF INTEREST

None to declare

## ACKNOWLEDGEMENTS

Some of the results in this manuscript were presented at the 55<sup>th</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents Chemotherapy, 18-21 September, 2015, San Diego (CA).

## REFERENCES

1. European Centre for Disease Prevention and Control (2012) <http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobialresistance/database/Pages/table-reports.aspx>
2. Pigrau C. Nosocomial urinary tract infections. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013; 31: 614-24.
3. Meier S, Weber R, Zbinden R, Ruef C, Hasse B. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Gram-negative pathogens in community-acquired urinary tract infections: an increasing challenge for antimicrobial therapy. *Infection*. 2011; 39: 333-40.
4. Gona F, Corona D, Zerbo D, Scriffignano V, Stefani S, Veroux P, et al. *Klebsiella pneumoniae* ESBL producers responsible for severe UTIs in a renal transplant unit. *Infection*. 2011; 39: 83-85.
5. Palacios-Baena ZR, Oteo J, Conejo C, Larrosa MN, Bou G, Fernández-Martínez M, et al. Comprehensive clinical and epidemiological assessment of colonisation and infection due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Spain. GEIH-GEMARA (SEIMC) and REIPI Group for CPE. *J Infect*. 2016; 72: 152-60.
6. Lee CR, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, Lee SH. Global dissemination of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods. *Front Microbiol*. 2016;7:895.
7. Oteo J, Saez D, Bautista V, Fernández-Romero S, Hernández-Molina JM, Pérez-Vázquez M, et al. Carbapenemase-producing enterobacteriaceae in Spain in 2012. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013; 57: 6344-7.
8. Qureshi ZA, Syed A, Clarke LG, Doi Y, Shields RK. Epidemiology and clinical outcomes of patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteriuria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014; 58: 3100-3104.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-second informational supplement. Document M100-S22. Wayne, PA: CLSI; 2012.
10. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoints tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 3.1; 2013. <http://www.eucast.org/clinical-breakpoints>
11. Tato M, Coque TM, Ruiz-Garbajosa P, Pintado V, Cobo J, Sader HS, et al. Complex clonal and plasmid epidemiology in the first outbreak of Enterobacteriaceae infection involving VIM-1 metallo- $\beta$ -lactamase in Spain: toward endemicity? *Clin Infect Dis* 2007; 45: 1171-8.
12. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis* 2010; 10: 597-602.
13. Falagas ME, Lourida P, Poulidakos P, Rafailidis PI, Tansarli GS. Antibiotic treatment of infections due to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: systematic evaluation of the available evidence. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(2):654-63. doi: 10.1128/AAC.01222-13. Epub 2013 Sep 30.
14. Qureshi ZA, Paterson DL, Potoski BA, Kilayko MC, Sandovsky G, Sor-dillo E, et al. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: superiority of combination antimicrobial regimens. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(4):2108-13. doi: 10.1128/AAC.06268-11.
15. Shilo S, Assous MV, Lachish T, Kopuit P, Bdolah-Abram T, Yinnon AM, et al. Risk factors for bacteriuria with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and its impact on mortality: a case-control study. *Infection*. 2013; 41: 503-9.
16. Paterson DL, Doi Y. A step closer to extreme drug resistance (XDR) in gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis*. 2007; 45: 1179-81.
17. Kritsotakis EI, Tsioutis C, Roubelaki M, Christidou A, Gikas A. Antibiotic use and the risk of carbapenem-resistant extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infection in hospitalized patients: results of a double case-control study. *J Antimicrob Chemother*. 2011; 66: 1383-91.
18. Tambyah PA, Maki DG. Catheter-associated urinary tract infection is rarely symptomatic. A prospective study of 1497 Catheterised Patients. *Arch Inter Med*. 2000; 160: 678-682.
19. Glasner C, Albiger B, Buist G, Tambić Andrasević A, Canton R, Carmeli Y, et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. *Euro Surveill*. 2013; 18 (28).
20. Carrer A, Poirel L, Yilmaz M, Akan OA, Feriha C, Cuzon G, et al. Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010; 54: 1369-73.
21. Giani T, Conte V, Di Pilato V, Aschbacher R, Weber C, Larcher C, et al. *Escherichia coli* from Italy producing OXA-48 carbapenemase encoded by a novel Tn1999 transposon derivative. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012; 56: 2211-3.
22. Potron A, Poirel L, Nordmann P. Derepressed transfer properties leading to the efficient spread of the plasmid encoding carbapenemase OXA-48. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014; 58: 467-71.
23. Pena I, Picazo JJ, Rodríguez-Avial C, Rodríguez-Avial I. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in a tertiary hospital in Madrid, Spain: high percentage of colistin resistance among VIM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* ST11 isolates. *Int J Antimicrob Agents*. 2014; 43: 460-4.
24. J. Oteo, A. Ortega, R. Bartolomé, G. Bou, C. Conejo, M. Fernández-Martínez. Prospective multicenter study of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from 83 hospitals in Spain reveals high in vitro susceptibility to colistin and meropenem. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015; 59: 3406-12.
25. Curiaio T, Morosini MI, Ruiz-Garbajosa P, Robustillo A, Baquero F, Coque TM, et al. Emergence of bla KPC-3-Tn4401a associated with a pKPN3/4-like plasmid within ST384 and ST388 *Klebsiella pneumoniae* clones in Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2010; 65: 1608-14.
26. González-Padilla M, Torre-Cisneros J, Rivera-Espinar F, Pontes-Moreno A, López-Cerero L, Pascual A, et al. Gentamicin therapy for sepsis due to carbapenem-resistant and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2015; 70: 905-13.
27. Temkin E, Torre-Cisneros J, Beovic B, Benito N, Giannella M, Gillarranz R, et al. Ceftazidime-Avibactam as Salvage Therapy for In-

- fections Caused by Carbapenem-Resistant Organisms. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 61. doi: 10.1128/AAC.01964-16.
28. Mediavilla JR, Patrawalla A, Chen L, Chavda KD, Mathema B, Vinard C, et al. Colistin- and Carbapenem-Resistant *Escherichia coli* Harboring *mcr-1* and *blaNDM-5*, Causing a Complicated Urinary Tract Infection in a Patient from the United States. *MBio.* 2016;7. doi: 10.1128/mBio.01191-16.
  29. Stein GE, Babinchak T. Tigecycline: an update. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013; 75: 331-6.
  30. Rodríguez-Baño J, Paño-Pardo JR, Alvarez-Rocha L, Asensio Á, Calbo E, Cercenado E, et al Programs for optimizing the use of antibiotics (PROA) in Spanish hospitals: GEIH-SEIMC, SEFH and SEMP-SPH consensus document. *Farm Hosp.* 2012; 36: 1-30.



## Original

Laura López-González<sup>1</sup>  
José Manuel Viñuela-Prieto<sup>1</sup>  
Iciar Rodríguez-Avial<sup>1</sup>  
Rocío Manzano<sup>2</sup>  
Francisco Javier Candel<sup>1,3</sup>

# Description of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* isolates in a Spanish tertiary hospital. Epidemiological analysis and clinical impact

<sup>1</sup>Department of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Hospital Clínico San Carlos. IdISSC Health Research Institute. Madrid. Spain

<sup>2</sup>Department of Pharmacy, Hospital Clínico San Carlos. IdISSC Health Research Institute. Madrid. Spain

<sup>3</sup>Universidad Complutense. Madrid. Spain

### Article history

Received: 7 February 2019; Revision Requested: 20 February 2019; Revision Received: 22 February 2019; Accepted: 23 February 2019

## ABSTRACT

**Objectives.** The aim of the study was to carry out an epidemiological analysis of patients with carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) isolations in our hospital as well as to perform a description of the genotypic temporal evolution of CPE isolated.

**Material and methods.** An observational prospective cohort study was performed involving all patients with CPE isolates from clinical samples during November 2014 to November 2016 in a Spanish teaching hospital. Patients were clinically evaluated and classified either as infected or colonized. Information on the consumption of carbapenems in the hospital during the study period was also analyzed. PCR was used for identification of the carbapenemase genes *blaKPC*, *blaVIM*, and *blaOXA-48*.

**Results.** A total of 301 CPE isolates were obtained (107 in 2014, 89 in 2015 and 105 in 2016). *Klebsiella pneumoniae* (73.4%) was the most prevalent microorganism. Hundred and seventy (56.7%) of carbapenemases detected were *blaOXA-48*, 73 (24.3%) were *blaKPC* and 57 (19%) were *blaVIM*. In year 2014 KPC was predominant while in 2016 OXA-48 predominated. In 2014 we observed a significant association between the medical wards and the ICU with a higher prevalence of OXA-48 (OR 4.15;  $P < 0.001$ ) and VIM (OR 7.40;  $P < 0.001$ ) in the univariate analysis, in the following years there was no association. Regarding the clinical significance of microbiological results after assessing our patients, 60% of isolates represented infection and 40% behaved as colonizers. One third of hospitalized patients with CPE isolation died within 30 days, regardless of whether they were colonized or infected.

**Conclusions.** We have observed an epidemiological change in the genotypes of our isolates along the study period. A thorough knowledge of the CPE's epidemiological distribution in each hospital is fundamental for optimizing antimicrobial chemotherapy.

**Keywords:** Carbapenem-producing *Enterobacteriaceae*, Epidemiology, tertiary hospital

## Descripción de los aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas en un hospital terciario. Análisis epidemiológico e impacto clínico

## RESUMEN

**Objetivos.** Se realizó un análisis epidemiológico de aquellos pacientes con aislamiento de Enterobacterias portadoras de carbapenemasas (EPC) en un hospital terciario, así como una descripción temporal de los genotipos de dichas EPC.

**Material y métodos.** Estudio de cohortes prospectivo observacional que incluyó todos los aislamientos de EPC obtenidos de muestras clínicas entre noviembre de 2014 y noviembre de 2016 en un hospital universitario. Los pacientes fueron evaluados clínicamente para determinar si el aislamiento era en el contexto de una infección o de una colonización. También se recopiló la información acerca del consumo de carbapenémicos en el hospital durante el periodo de estudio. Se usó la técnica PCR para la identificación de los genes de carbapenemasas *blaKPC*, *blaVIM*, and *blaOXA-48*.

**Resultados.** Se obtuvieron un total de 301 aislamientos de EPC (107 en 2014, 89 en 2015 y 105 en 2016). *Klebsiella pneumoniae* (73,4%) fue el microorganismo más prevalente. De las carbapenemasas aisladas, 170 (56,7%) correspondieron a *blaOXA-48*, 73 (24,3%) a *blaKPC* y 57 (19%) a *blaVIM*. En el año 2014 KPC fue la predominante mientras que en 2016 lo fue OXA-48. En 2014 la prevalencia de OXA-48 (OR 4,15;

Correspondence:  
Francisco Javier Candel González,  
Department of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Hospital Clínico San Carlos.  
IdISSC Health Research Institute.  
Universidad Complutense. Madrid. Spain  
Phone: +34 91 330 3486  
E-mail: fj.candel@gmail.com

$P < 0,001$ ) y de VIM (OR 7,40;  $P < 0,001$ ) fue significativamente mayor en las áreas médicas y en la UCI en el análisis univariante, sin embargo en los siguientes años no hubo ninguna asociación. Respecto a la significación clínica de los resultados microbiológicos, un 60% de los aislamientos correspondían a una infección y un 40% a una colonización. Un tercio de los pacientes hospitalizados con aislamiento para EPC murieron en los 30 días siguientes al mismo, independientemente de si representaba una colonización o una infección.

**Conclusiones.** Hemos constatado un cambio en el patrón epidemiológico de los genotipos de nuestros aislamientos a lo largo del período de estudio. Un conocimiento pormenorizado de los patrones de distribución epidemiológica de las EPC dentro de cada hospital es fundamental para optimizar la terapéutica antimicrobiana.

**Palabras clave:** Enterobacterias portadoras de carbapenemasas, epidemiología, hospital terciario

## INTRODUCTION

The emergence and uncontrolled dissemination of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) has caused great concern to public healthcare systems worldwide. Genes associated with carbapenemase production are often contained on mobile genetic elements that facilitate transfer among different *Enterobacteriaceae* species. Until 2009, CPE prevalence in Spain was relatively low and normally related to VIM and KPC enzymes [1, 2]. Recently, CPE prevalence significantly increased owing to the dissemination of successful *Klebsiella pneumoniae* clones harbouring blaOXA-48, mainly linked to health care exposure and prolonged hospital stay [3, 4]. On the other hand, the emergence of CPE as a cause of community-onset initiated infections, represents a matter of great concern, taking into account the latest detected trends and the increase in carbapenemase reservoirs worldwide, mainly due to the producers of OXA-48 [5, 6].

It is known that precautions based on transmission (contact isolation) for colonized and infected patients is a key factor to reduce their impact [7, 8] but CPE cases go beyond the limits of clinical services and the hospital itself, extending to different types of patients and in clinical settings. That is the reason why not only this measures must be done in general. Epidemiological studies are necessary to better understand the epidemiological trend and what preventive measures and clinical decisions could be implemented to address the challenges related to CPE isolation.

The aim of our study was to carry out an epidemiological analysis of patients with CPE isolations in our hospital from 2014 to 2016. Moreover, a description of the genotypic temporal evolution of CPE isolation in a tertiary hospital was also performed.

## MATERIAL AND METHODS

An observational prospective cohort study was performed involving all patients with CPE isolates from clinical samples

during November 2014 to November 2016 in a Spanish teaching hospital with over 800 beds and 60/40 medical-surgical activity. Patients were clinically evaluated and classified either as infected or colonized. Information on the consumption of carbapenems in the hospital during the study period was also analyzed. Patients were identified through the Microbiology Department database and only a single episode per patient, the first one, was considered during the study period.

**Definition and collection of variables.** Data were collected from the microbiology laboratory records of patients with CPE from clinical samples and was evaluated and classified either as infected or colonized. An infection or colonization diagnosis was considered if it was established as a diagnosis during the patient's care by the responsible physician according to the usual clinical practice. Origin of clinical sample was from hospitalized patients or from primary care. Type of admission ward and the 30-day mortality after the index event also were collected. Global carbapenem use of in the whole Institution, measured as Defined Daily Doses (DDD) per 100 bed-days, was analyzed during the study period.

**Microbiological procedures.** Analysis included all CPE isolations, but only the first isolation and during the study period. The identification of clinical isolates was performed by MALDI-TOF MS<sup>®</sup> (Microflex; Bruker Daltonics, Bremen, Germany). Antibiotic susceptibility testing was performed using either the Wider<sup>®</sup> (Fco. Soria Melguizo, Madrid, Spain) or VITEK<sup>®</sup> systems (bioMérieux, Marcy L'Étoile, France). Isolates were categorised as either susceptible or resistant to the antibiotics tested according to the interpretative criteria of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [9].

Enterobacterial strains recovered from any clinical sample with an imipenem or meropenem minimum inhibitory concentration (MIC) of  $> 1$  mg/L, or a MIC for ertapenem of  $> 0.5$  mg/L were retested using E-test<sup>®</sup> (bioMérieux, Marcy L'Étoile, France), and screened carbapenemase production by modified Hodge test. All isolates with Hodge test positive were characterised by molecular or immune chromatographic methods. PCR was used for identification of the carbapenemase genes blaKPC, blaVIM, and blaOXA-48 [10, 11] since those are the most frequent types of carbapenemas in Spain.

**Statistical analysis.** Descriptive statistics were obtained for all variables. Univariate comparison of proportions for categorical variables was performed by either Fisher's exact test or the Chi-square test. Odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) were calculated for all valid associations. A significance level of  $P \leq 0.05$  was considered. CPE population diversity was estimated by using the Simpson's Dominance Index (SDI) [12]. SDI values ranges from 0 to 1 representing, respectively, the least and the most possible biodiversity possible in the population. All statistical analysis were performed using SPSS<sup>®</sup> Version 20 (IBM<sup>®</sup>, Chicago, USA).

## RESULTS

A total of 301 isolates of CPE were obtained (107 in 2014, 89 in 2015, and 105 in 2016). The clinical sample with the highest frequency of isolates was urine (n=157), followed by exudates (n=60), respiratory samples (n=38), blood cultures (n=32) and corporal fluids (n=8) (figure 1). *K. pneumoniae* (221/301; 73.4%) was the most prevalent microorganism, followed by *Enterobacter cloacae* (38/301; 12.6%), *Serratia marcescens* (16/301; 5.3%), *Klebsiella oxytoca* (10/301; 3.3%), *Escherichia coli* (6/301; 1.9%), *Citrobacter freundii* (4/301; 1.3%), *Enterobacter absuriae* (3/301; 0.9%), *Enterobacter aerogenes* (2/301; 0.6%) and *Citobacter koseri* (1/301; 0.3%). Analysing the yearly distribution of the variety of species isolated we observed that the Simpson's Dominance Index (SDI) showed a diversification increase during the study period (SDI year 2014= 0.432, SDI year 2015= 0.427 and SDI year 2016= 0.463).

Regarding the types of carbapenemas detected (figure 2), 170 (56.7%) of them were *bla*OXA-48, 73 (24.3%) *bla*KPC and 57 (19%) *bla*VIM. By care units, most of isolates came from medicals wards, followed by surgical wards and the ICU. OXA-48 predominated in medical and surgical areas, and in patients whose samples came from primary care. On the other hand, KPC and VIM genotypes predominated in the ICU during the first year of the study. Isolations in surgical wards ranged from 27% in 2014 to 11% in 2016. In the ICU has decreased (21 isolations in 2014, 11 in 2015 and 9 in 2016). The complete distribution of carbapenemas isolated regarding the care unit, the year and the type of enzyme are depicted in figure 3.

In the univariate analysis, in 2014 we observed a significant association between the medical wards and the ICU with a higher prevalence of OXA-48 (OR 4.15;  $P<0.001$ ) and VIM (OR 7.40;  $P<0.001$ ). All the univariate analysis results are summarized in table 1. When we analysed the genotype in 2014 KPC was predominant and in 2016 OXA-48 predominated (figure 2).

When we analysed the clinical significance of microbiological results after assessing our patients, 60% of isolates represented infection and 40% behaved as colonizers. One third of hospitalized patients with CPE isolation died within 30 days, regardless of whether they were colonized or infected. The global use of carbapenems, measured as DDD per 100 bed-days, decreased slightly from 2014 to 2016, especially at the expense

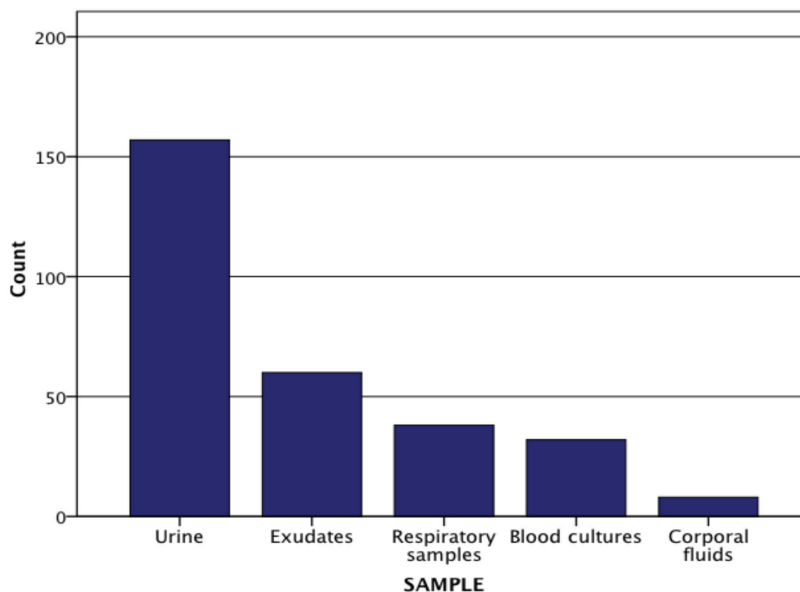


Figure 1 | Origin of clinical samples

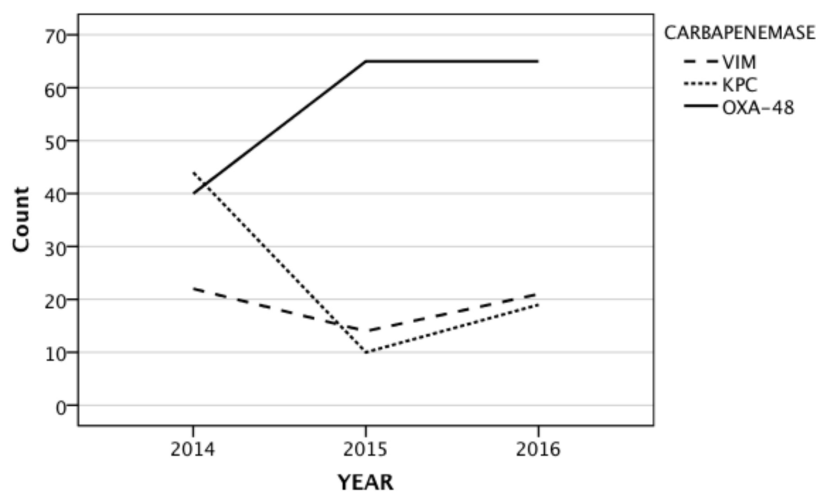


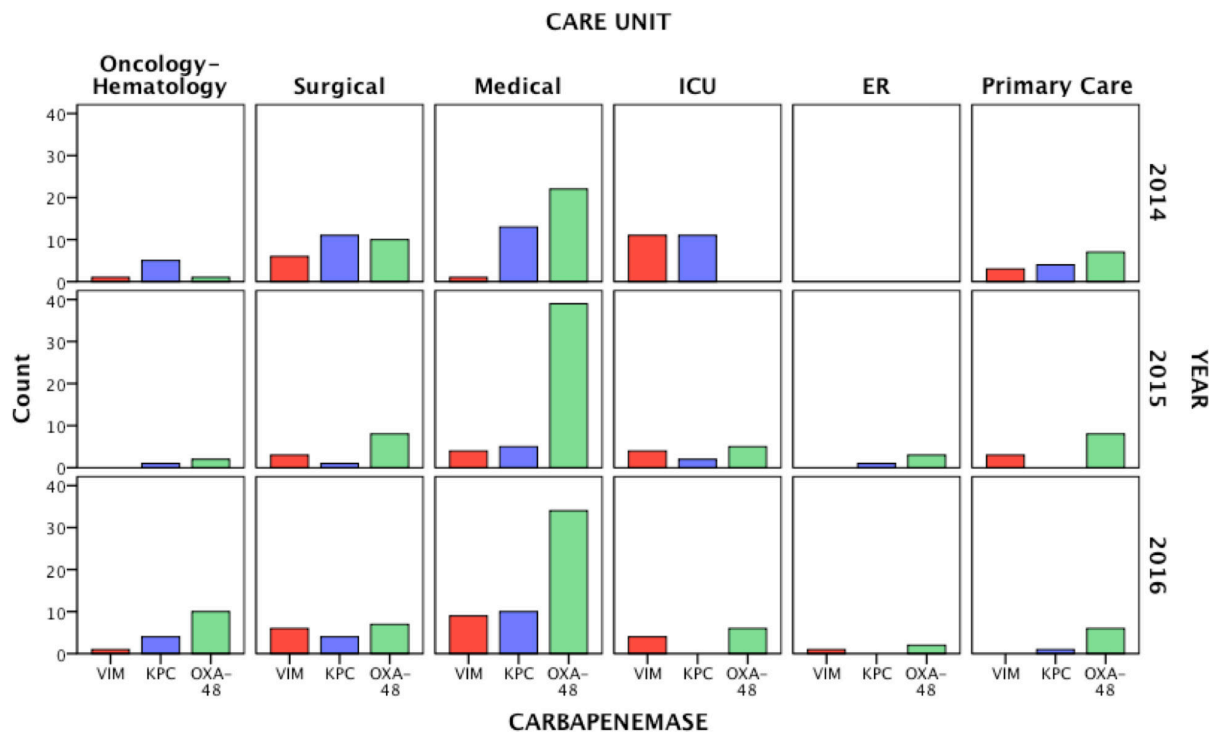
Figure 2 | Frequency of carbapenemase isolates from 2014 to 2016

of meropenem and imipenem (figure 4). Only those units with more fragile patients such as internal medicine, oncology and hematology have maintained a similar level of carbapenem usage during the study period.

## DISCUSSION

In the present study we analyse the epidemiological, clinical and outcome features of patients with colonisation and





**Figure 3** Yearly distribution of carbapenemase isolates by care units

ICU: Intensive Care Unit; ER: Emergency Room.

infection due to CPE. We observed that the overall prevalence of CPE increased during the study period, and this phenomenon was primarily associated with OXA-48. Our results showed that up to nine different species of *Enterobacteriaceae* showed enzyme production, mainly *K. pneumoniae* OXA-48. The most frequent types of clinical samples were urine, followed by exudates and respiratory samples. The majority of patients with CPE isolated from urinary samples usually correspond to patients with transient or permanent urological devices (catheter, pig-tail, double J) and previous antimicrobial therapy, both factors constitute the perfect environment for a MDR selection, since the protection given by the urological devices counteracts the natural clearance mechanisms. At present time, UTIs due to CPE constitute a growing nosocomial infection [13–15].

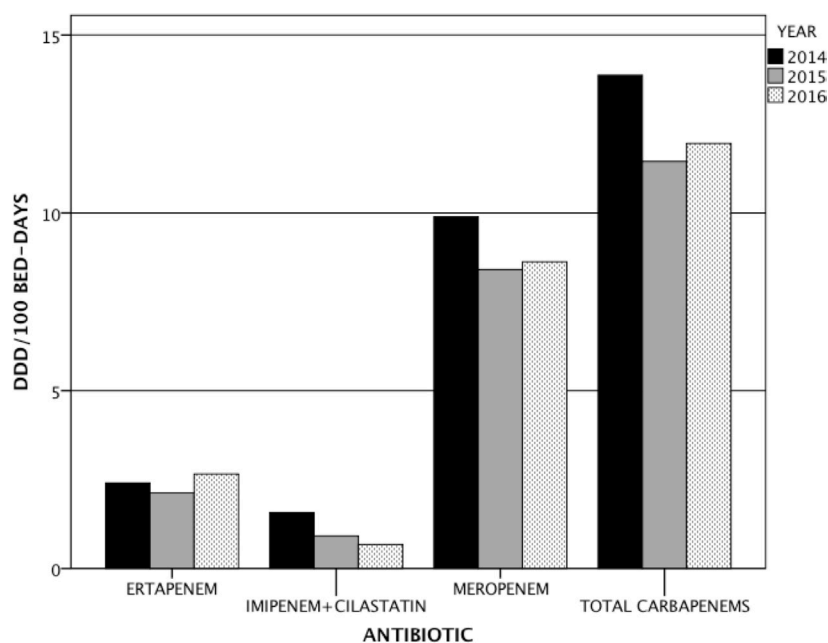
The most predominant *Enterobacteriaceae* during the whole study period were *Klebsiella* spp (76% of the episodes), in particular *K. pneumoniae*. These data coincided with most of the studies, where it is considered to be the main reservoir of the carbapenemase genes, particularly OXA-48 [16, 17]. Other minority species were also detected in a slightly high percentage, including rare *Enterobacteriaceae* such as *C. koseri*. These results may reflect the efficient penetration of carbapenemase among the *Enterobacteriaceae* as it has occurred previously with the isolating producers of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL), in particular CTX-M. Distribution of these species was homogeneous throughout the study period, and the isolated CPE species diversity increased slightly from 2014 to 2016.

Most of the isolates came from medical wards, usually the length of stay, the number of medical procedures and the antimicrobial prescription were more frequent. This more complex profile of patients, along with a higher prevalence of comorbidities between them, has all been related to the increase of CPE isolates [5]. From the microbiological point of view, the increasing prevalence of OXA-48 both in the medical wards and in the hospital in general, could be due to the efficient dissemination of the *bla*OXA-48 gene between the enteric flora of hospitalized patients that facilitate a high colonization rate. This fact could lead to a greater dispersion of this enzyme that produces a complex epidemiological situation with a high number of colonized individuals [18, 19]. The *bla*OXA-48 gene is housed in a conjugated plasmid whose gene encodes a protein that inhibits bacterial conjugation and efficient propagation of the *bla*OXA-48 gene, although clonal dissemination also contributes to the success of OXA-48 [20]. We observed a constant maintenance of the number of isolates coming from primary care practices, this situation has the risk of dissemination of OXA-48 into the community. Several studies show the emergence of CPE as a cause of community-onset infections. This fact should be a matter of great concern, taking into account the latest trends detected and the increase in carbapenemase reservoirs worldwide [5, 6]. These changes in the epidemiology patterns suggest that the incidence of both nosocomial and community-acquired infections will increase in the next future, mainly due to the OXA-48 CPE [5, 6]. This situation might

**Table 1 Risk of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* isolation considering care unit and type of carbapenemase in the three years of the study**

	2014												2015												2016											
	KPC				VIM				OXA-48				KPC				VIM				OXA-48				KPC				VIM				OXA-48			
	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE	OR (95% CI)	P-VALUE				
Oncology-Hematology	3'846 (0'711- 20'816)	0'096	0'658 (0'075- 5'784)	0'704	0'256 (0'030- 2'212)	0'185	4'222 (0'347- 51'330)	0'222	0'443	0'742 (0'064- 8'578)	0'810	1'794 (0'503- 6'400)	0'363	0'246 (0'031- 1'990)	0'158	1'296 (0'409- 4'113)	0'659																			
Surgical	0'958 (0'394- 2'330)	0'925	1'219 (0'419- 3'545)	0'716	0'961 (0'389- 2'372)	0'931	0'677 (0'078- 5'881)	0'722	0'354	0'714 (0'194- 2'632)	0'612	1'477 (0'423- 5'161)	0'539	2'618 (0'838- 8'184)	0'090	0'368 (0'127- 1'066)	0'059																			
Medical	0'664 (0'291- 1'515)	0'329	0'068 (0'009- 0'531)	0'001	4'156 (1'779- 9'705)	0'001	0'814 (0'218- 3'039)	0'759	0'033	2'600 (0'989- 6'838)	0'058	1'085 (0'401- 2'938)	0'872	0'665 (0'253- 1'746)	0'406	1'253 (0'568- 2'764)	0'577																			
ICU	1'545 (0'602- 3'970)	0'364	7'400 (2'551- 21'469)	<0'001	0'524 (0'427- 0'642)	<0'001	1'917 (0'351- 10'471)	0'446	0'070	0'254 (0'069- 0'932)	0'030	-	0'116	3'020 (0'767- 11'881)	0'101	0'931 (0'246- 3'526)	0'916																			
ER	-	-	-	-	-	-	2'778 (0'261- 29'609)	0'379	0'833	1'131 (0'112- 11'435)	0'917	-	0'406	2'025 (0'175- 23'463)	0'565	1'258 (0'110- 14'342)	0'853																			
Primary care	0'589 (0'169- 2'050)	0'401	0'708 (0'145- 3'468)	0'669	2'121 (0'658- 6'836)	0'201	-	0'229	0'196	0'860 (0'203- 3'636)	0'937	0'889 (0'098- 8'079)	0'917	-	0'204	3'305 (0'372- 29'379)	0'258																			

ICU: Intensive Care Unit; ER: Emergency Room.



**Figure 4** Global DDD per 100 bed-days in our Hospital from 2014 to 2016

vascular) from 2011 to 2015 and the "Zero measures" implemented from 2013 to 2015 (one intensive care specialist responsible of prescriptions, one nurse responsible of infection control measures, checklist of risk factors at admission, 4% chlorhexidine for hygiene in patients colonized or infected with MDR pathogens), were important to control the CPE dissemination in the ICU.

Carbapenem use is another important key point in order to understand the distribution trends and the predominance shift from one type of carbapenemase to another over time. Analysing the DDD per 100 bed-days employed on each of the main carbapenem-prescribing care units in our institution, we observed a slight decrease in the usage of this group of antibiotics during 2015 (figure 4). Nevertheless, since some of those care units, such as the medical wards, Oncology and Hematology, take care of the most fragile patients, it is sometimes difficult to restrict carbapenem prescription. Moreover, specific protocols or clinical guides usually exist in those care units promoting the empiric use of carbapenems in cases such as the

also be related to delayed clearance of CPE carrier status after hospital discharge. The intestinal microbiota can be a reservoir of CPE genes in the community since intestinal colonization can last for months [21, 22] allowing the transmission to close contacts and, therefore, increasing the prevalence of community-acquired CPE infections [23, 24].

On the other hand, in our serie a non-negligible number of CPE isolates were collected in patients admitted to the surgical areas, especially during 2014, without any enzymatic class predominating. In the two following years, due to a greater awareness in the contact measures and optimization in the antimicrobial treatment, KPC and VIM isolates number was reduced, keeping the OXA-48 level almost constant. Something similar happened in ICU, where the depletion in the isolation of VIM and KPC CPE was more evident, due to implementation of control measures such as selective bowel decontamination (SBD) and intensified by "Zero measures" [25, 26].

In a multicenter study performed by Oteo et al. [27] on Spanish ICU patients with rectal CPE colonization a low prevalence was also found. Nevertheless, it is important to know the data of the institution where you work since there is significant variability between the different Spanish hospital's ICUs [27]. This low proportion could be in fact explained because a rectal CPE-carrier status analysis is carried out on every patient admitted to an ICU. This measure, which is not usually taken in the rest of the care units, allows the CPE-colonized patients to be subjected to special control protocols. In the case of our ICU, the CPE isolations decreased from 2014 to 2016. The above mentioned protocols, which include the SBD, were implemented in all ICU (neuro-polytrauma, medical-surgical and cardio-

febrile neutropenia. In that respect, many clinical guides have been recently modified regarding the empirical prescription of carbapenems in febrile neutropenia in an effort to prevent the selection of resistant strains. For example, the European Conference on infections in Leukemia (ECIL) guides now consider the carbapenems as an option only when the patient is in shock, maintaining piperacillin-tazobactam, cefepime or even ceftazidime as first options with an A-I level of evidence [28, 29]. The consultant experts on infectious diseases or the stewardship teams could advise the specialists from these care units whenever early de-escalation in stable patients is possible.

An explanation for the epidemiological change from KPC to OXA-48 in our hospital could be related to an OXA-48 CPEs disseminated throughout our country [18]. Therefore, our hospital would be representing just a minor part in what is in fact a nation-wide phenomenon. The epidemiological situation of the CPEs in Spain in 2014, was considered as an inter-regional dissemination where most CPE isolated were OXA-48, which produced a rapid evolution. However, a significant number of KPC CPEs were isolated in 2014 in our institution. Our hypothesis to explain the high frequency of KPC isolations during that year is that probably it was an outbreak of the same clone of KPC *K. pneumoniae*. Prevalence of KPC genotype has been low in the majority of Spanish hospitals from the first isolations of KPC enzyme in 2010 [1, 30]. Nevertheless several outbreaks of *K. pneumoniae* KPC-2 and KPC-3 have been characterized in high-risk clones such as ST11, ST101 and ST512 [31, 32] and even colistin-resistant KPC-producing *K. pneumoniae* [8, 33].

VIM CPE isolations remained practically constant during the period studied, and it also was the genotype less frequently

isolated. These data did not coincide with what happened at the same time in Spain, because OXA-48 and VIM were responsible for the major part of the isolates in the country. Currently, the strains of *K. pneumoniae* OXA-48 are responsible for the most CPE isolations and infections in Spain [18], while a great proportion of OXA-48 are colonizers.

Finally, 40% on CPE isolates were colonizations. Colonization precedes infection in most cases; an intestinal CPE-carrier status may be the source of subsequent clinical infection in approximately 9% of cases [34–38]. In addition, these patients can serve as a repository for the dissemination of CPE in health centers. The outbreaks of CPE are leading to an endemic situation where clinical infections are just the tip of the iceberg but most affected patients are asymptomatic intestinal carriers [7, 24, 39]. At present time, healthy carriers are usually considered as the most important reservoirs of CPE [40]. Also, being CPE colonized did not reduce the impact on the prognosis of these patients, since a third of these died in the following 30 days to the isolation, despite colonizer or pathogen.

In conclusion, we have observed an epidemiological change in the genotypes of our isolates that could condition a change in the therapeutic protocols. The persistence of OXA-48-producing *Enterobacteriaceae* in the medical wards is a serious problem, this evidence must make a position expressing the need for definitive and coordination action with strong control measures to contain this spread in this nosocomial environment.

## FUNDING

None to declare

## CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

## REFERENCES

- Curiao T, Morosini MI, Ruiz-Garbajosa P, Robustillo A, Baquero F, Coque TM, et al. Emergence of bla KPC-3-Tn4401a associated with a pKPN3/4-like plasmid within ST384 and ST388 *Klebsiella pneumoniae* clones in Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(8):1608–14. doi: 10.1093/jac/dkq174
- Ruiz-Garbajosa P, Curiao T, Tato M, Gijon D, Pintado V, Valverde A, et al. Multiclonal dispersal of KPC genes following the emergence of non-ST258 KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* clones in Madrid, Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(11):2487–92. doi: 10.1093/jac/dkt237
- Branas P, Gil M, Villa J, Orellana MA, Chaves F. Molecular epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* infection/colonisation in a hospital in Madrid. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2018;36(2):100–3. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2015.02.019
- Oteo J, Domingo-García D, Fernández-Romero S, Saez D, Guiu A, Cuevas O, et al. Abdominal abscess due to NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Spain. *J Med Microbiol.* 2012;61(Pt 6):864–7. doi: 10.1099/jmm.0.043190-0
- Palacios-Baena ZR, Oteo J, Conejo C, Larrosa MN, Bou G, Fernández-Martínez M, et al. Comprehensive clinical and epidemiological assessment of colonisation and infection due to carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Spain. *J Infect.* 2016;72(2):152–60. doi:10.1016/j.jinf.2015.10.008
- Oteo J, Calbo E, Rodríguez-Bano J, Oliver A, Hornero A, Ruiz-Garbajosa P, et al. [The threat of the carbapenemase-producing enterobacteriaceae in Spain: positioning report of the SEIMC study groups, GEIH and GEMARA]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32(10):666–70. doi: 10.1016/j.eimc.2014.02.011
- Calfee D, Jenkins SG. Use of active surveillance cultures to detect asymptomatic colonization with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in intensive care unit patients. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008;29(10):966–8. doi: 10.1086/590661
- Cano A, Gutierrez-Gutierrez B, Machuca I, Gracia-Ahufinger I, Perez-Nadales E, Causse M, et al. Risks of Infection and Mortality Among Patients Colonized With *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing *K. pneumoniae*: Validation of Scores and Proposal for Management. *Clin Infect Dis.* 2018;66(8):1204–10. doi: 10.1093/cid/cix991
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-second Informational Supplement M100-S22. 2012.
- Tato M, Coque TM, Ruiz-Garbajosa P, Pintado V, Cobo J, Sader HS, et al. Complex clonal and plasmid epidemiology in the first outbreak of *Enterobacteriaceae* infection involving VIM-1 metallo-beta-lactamase in Spain: toward endemicity? *Clin Infect Dis.* 2007;45(9):1171–8. doi: 10.1086/522288
- Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis.* 2010;10(9):597–602. PMID: 20705517
- Hunter PR, Gaston MA. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J Clin Microbiol.* 1988;26(11):2465–6. PMID: 3069867
- Lopez-Gonzalez L, Candel FJ, Vinuela-Prieto JM, Gonzalez-Del Castillo J, Garcia AB, Pena I, et al. Useful independent factors for distinguish infection and colonization in patients with urinary carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* isolation. *Rev Esp Quimioter.* 2017;30(6):450–7. PMID: 29115369
- Shilo S, Assous MV, Lachish T, Kopuit P, Bdoalah-Abram T, Yinnon AM, et al. Risk factors for bacteriuria with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and its impact on mortality: a case-control study. *Infection.* 2013;41(2):503–9. doi: 10.1007/s15010-012-0380-0
- Zilberberg MD, Shorr AF. Secular trends in gram-negative resistance among urinary tract infection hospitalizations in the United States, 2000–2009. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013;34(9):940–6. doi: 10.1086/671740
- Oteo J, Saez D, Bautista V, Fernández-Romero S, Hernández-Mo-

- lina JM, Perez-Vazquez M, et al. Carbapenemase-producing enterobacteriaceae in Spain in 2012. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(12):6344-7. doi: 10.1128/AAC.01513-13
17. Coelho A, Piedra-Carrasco N, Bartolome R, Quintero-Zarate JN, Larrosa N, Cornejo-Sanchez T, et al. Role of IncHI2 plasmids harbouring blaVIM-1, blaCTX-M-9, aac(6)-Ib and qnrA genes in the spread of multiresistant *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae* strains in different units at Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain. *Int J Antimicrob Agents*. 2012;39(6):514-7. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.01.006
  18. Oteo J, Hernandez JM, Espasa M, Fleites A, Saez D, Bautista V, et al. Emergence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* and the novel carbapenemases OXA-244 and OXA-245 in Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2013 ;68(2):317-21. doi: 10.1093/jac/dks383
  19. Glasner C, Albiger B, Buist G, Tambic Andrasevic A, Canton R, Carmeli Y, et al. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. *Euro Surveill*. 2013;18(28). PMID: 23870096
  20. Carrer A, Poirel L, Yilmaz M, Akan OA, Feriha C, Cuzon G, et al. Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 ;54(3):1369-73. doi: 10.1128/AAC.01312-09
  21. Tumbarello M, Trecarichi EM, De Rosa FG, Giannella M, Giacobbe DR, Bassetti M, et al. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. *J Antimicrob Chemother*. 2015 ;70(7):2133-43. doi: 10.1093/jac/dkv086
  22. Lopez-Cerero L, Almirante B. Epidemiology of infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: reservoirs and transmission mechanisms. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014;32 Suppl 4:10-6. doi: 10.1016/S0213-005X(14)70169-7
  23. Pano-Pardo JR, Lopez Quintana B, Lazaro Perona F, Ruiz Carrascoso G, Romero-Gomez MP, Loeches Yague B, et al. Community-Onset Bloodstream and Other Infections, Caused by Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae*: Epidemiological, Microbiological, and Clinical Features. *Open Forum Infect Dis*. 2016 ;3(3):ofw136. doi: 10.1093/ofid/ofw136
  24. Lazaro-Perona F, Ramos JC, Sotillo A, Mingorance J, Garcia-Rodriguez J, Ruiz-Carrascoso G, et al. Intestinal persistence of a plasmid harboring the OXA-48 carbapenemase gene after hospital discharge. *J Hosp Infect*. 2018. doi: 10.1016/j.jhin.2018.07.004
  25. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008 Dec;29(12):1099-106. doi: 10.1086/592412
  26. Akova M, Daikos GL, Tzouveleki L, Carmeli Y. Interventional strategies and current clinical experience with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(5):439-48. PMID: 22507111
  27. Oteo J, Alcaraz R, Bou G, Conejo C, Diaz-Lamas AM, Fernandez-Martinez M, et al. Rates of faecal colonization by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* among patients admitted to ICUs in Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2015 ;70(10):2916-8. doi: 10.1093/jac/dkv187
  28. Averbuch D, Cordonnier C, Livermore DM, Mikulska M, Orasch C, Viscoli C, et al. Targeted therapy against multi-resistant bacteria in leukemic and hematopoietic stem cell transplant recipients: guidelines of the 4th European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-4, 2011). *Haematologica*. 2013;98(12):1836-47. PMID: 24323984
  29. Bassetti M, Righi E. Multidrug-resistant bacteria: what is the threat? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2013;2013:428-32. PMID: 24319215
  30. Robustillo Rodela A, Diaz-Agero Perez C, Sanchez Sagrado T, Ruiz-Garbajosa P, Pita Lopez MJ, Monge V. Emergence and outbreak of carbapenemase-producing KPC-3 *Klebsiella pneumoniae* in Spain, September 2009 to February 2010: control measures. *Euro Surveill*. 2012;17(7). PMID: 22370016
  31. Lopez-Cerero L, Egea P, Gracia-Ahufinger I, Gonzalez-Padilla M, Rodriguez-Lopez F, Rodriguez-Bano J, et al. Characterisation of the first ongoing outbreak due to KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* (ST512) in Spain. *Int J Antimicrob Agents*. 2014;44(6):538-40. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.08.006
  32. Oteo J, Perez-Vazquez M, Bautista V, Ortega A, Zamarron P, Saez D, et al. The spread of KPC-producing *Enterobacteriaceae* in Spain: WGS analysis of the emerging high-risk clones of *Klebsiella pneumoniae* ST11/KPC-2, ST101/KPC-2 and ST512/KPC-3. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(12):3392-9. doi: 10.1093/jac/dkw321
  33. Machuca I, Gutierrez-Gutierrez B, Perez Cortes S, Gracia-Ahufinger I, Serrano J, Madrigal MD, et al. Oral decontamination with aminoglycosides is associated with lower risk of mortality and infections in high-risk patients colonized with colistin-resistant, KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2016 ;71(11):3242-9. doi: 10.1093/jac/dkw272
  34. Schechner V, Kotlovsky T, Kazma M, Mishali H, Schwartz D, Navon-Venezia S, et al. Asymptomatic rectal carriage of blaKPC producing carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: who is prone to become clinically infected? *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(5):451-6. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.03888.x
  35. Borer A, Saidel-Odes L, Eskira S, Nativ R, Riesenber K, Livshiz-Riven I, et al. Risk factors for developing clinical infection with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospital patients initially only colonized with carbapenem-resistant *K pneumoniae*. *Am J Infect Control*. 2012;40(5):421-5. doi: 10.1016/j.ajic.2011.05.022
  36. Wiener-Well Y, Rudensky B, Yinnon AM, Kopuit P, Schlesinger Y, Broide E, et al. Carriage rate of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospitalised patients during a national outbreak. *J Hosp Infect*. 2010;74(4):344-9. doi: 10.1016/j.jhin.2009.07.022
  37. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis*. 2013 ;13(9):785-96. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70190-7
  38. Pano Pardo JR, Serrano Villar S, Ramos Ramos JC, Pintado V. Infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: risk factors, clinical features and prognosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014;32 Suppl 4:41-8. doi: 10.1016/S0213-005X(14)70173-9

39. Feldman N, Adler A, Molshatzki N, Navon-Venezia S, Khabra E, Cohen D, et al. Gastrointestinal colonization by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* following hospital discharge: duration of carriage and risk factors for persistent carriage. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19(4):E190-6. doi: 10.1111/1469-0691.12099
40. Tzouveleki LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other *Enterobacteriaceae*: an evolving crisis of global dimensions. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25(4):682-707. doi: 10.1128/CMR.05035-11

## **Comunicaciones a congresos**

-Epidemiology and clinical outcomes of patients with urinary isolation of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*.

**López González L**, García AB, Jordan B, Rodríguez-Avial I, Candel FJ, Picazo JJ. Interscience Conference on Antimicrobial Agents Chemotherapy (ICAAC). San Diego, 2015

-Análisis descriptivo de los aislamientos de enterobacterias portadoras de carbapenemasa en el HCSC.

**López L**, AB. García, I. Rodríguez Avial I, Candel FJ. XIX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas. Sevilla, 2015

-Análisis comparativo de los aislamientos de enterobacterias portadoras de carbapenemasa en un hospital de nivel tercer en 2014 y 2015.

**López González L**, Rodríguez- Avial I, Peñuelas M, Candel FJ. XX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas. Barcelona, 2016

-Description of isolates of carbapenem-producing *Enterobacteriaceae* in a tertiary hospital in Spain. Epidemiological analysis and clinical impact.

**L. López González**, I. Rodríguez Avial, J. Viñuela Prieto, A. Arenaza, E. Culebras, FJ. Candel. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC). New Orleans, 2017